

**Optisch-Optoelektronischer Motilitätstest
mit Panzerwelsen bzw. Tubificiden
zur Gewässerkontrolle**

Thomas Hofmann

Disbui. M_unchen
1988

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungs-
physiologie der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. Dr. habil. H. Petry

**OPTISCH-OPTOELEKTRONISCHER MOTILITÄTSTEST MIT PANZER-
WELSEN BZW. TUBIFICIDEN ZUR GEWÄSSERKONTROLLE**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Thomas Hofmann
aus
Crailsheim
München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. Dr.habil. H. Petry

Korreferent: Prof. Dr. Dr.habil. R. Hoffmann

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATUR	4
2.1. Zum Stand der Gewässerverschmutzung	4
2.2. Hauptverursacher der Gewässerverschmutzung	4
2.2.1. Industrie	4
2.2.2. Landwirtschaft	8
2.2.3. Private Haushalte	10
2.3. Gesetzliche Maßnahmen zur Gewässerreinigung	10
2.4. Testverfahren	12
2.4.1. Physikalische und chemische Verfahren	13
2.4.2. Biologische Testverfahren	13
2.4.2.1. Fishtests	17
2.4.2.2. Tests mit anderen Organismen bzw. Objekten	30
3. MATERIAL UND METHODIK	38
3.1. Motilitätsmeßverfahren	38
3.1.1. Meßprinzip	38
3.1.2. Aufbau der Meßplatte	40
3.1.3. Meßwertverarbeitung	40
3.2. Durchführung von Motilitätstests mit kleinen Versuchsfischen (Zierfische)	43
3.2.1. Meßvorrichtung	43

	Seite
3.2.2. Funktionsweise	47
3.2.3. Prüfung der Durchmischung im Tierkäfig	50
3.2.4. Registrierung der Meßwerte	52
3.2.5. Auswahl der Testfischspezies	52
3.2.6. Versuchsfische und ihre Haltung	53
3.2.7. Festlegung der Versuchstemperatur	57
3.2.8. Durchführung des Toxizitätstests	59
3.2.8.1. Tests mit einem Tensid	60
3.2.8.2. Tests mit einem Insektizid	61
3.3. Durchführung von Motilitätstests mit Tubificiden	61
3.3.1. Testorganismen und deren Haltung	61
3.3.2. Aufbau und Funktionsweise des Versuchsgefäßes	63
3.3.3. Verteilung der Schadstofflösung im Tierbehälter	67
3.3.4. Registrierung und Auswertung der Meßergebnisse	68
3.3.5. Versuchsdurchführung	69
3.3.6. Durchführung von Toxizitätstests	70
3.3.6.1. Tests mit einem haushaltsüblichen Spülmittel	70
3.3.6.2. Tests mit SDS (Sodiumdodekylsulfat)	71
3.3.6.3. Tests mit einem Insektizid	71
3.3.6.4. Tests mit einem Herbizid	71
4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION	73
4.1. Bewertung des Motilitätstests als Frühwarnsystem	73

4.2.	Vorteile des optisch-optoelektronischen Motilitätsmeßverfahrens	75
4.3.	Untersuchungen mit Panzerwelsen	77
4.3.1.	Testergebnisse mit einem Spülmittel (Pril)	82
4.3.2.	Testergebnisse mit einem Insektizid (Perfekthion)	90
4.4.	Untersuchungen mit Tubificiden	99
4.4.1.	Testergebnisse mit einem Spülmittel (Pril)	106
4.4.2.	Testergebnisse mit einem anionischen Tensid (SDS)	111
4.4.3.	Testergebnisse mit einem Insektizid (Perfekthion)	111
4.4.4.	Testergebnisse mit einem Herbizid (Roundup)	114
4.5.	Schlußfolgerung	120
5.	ZUSAMMENFASSUNG	122
	SUMMARY	124
6.	LITERATURVERZEICHNIS	126
	LEBENS LAUF	

1. EINLEITUNG

Wasser, für das Leben auf unserer Erde ein unverzichtbares Grundelement, wird mehr und mehr zum kostbaren, immer knapper werdenden Rohstoff, den es deshalb immer dringlicher zu schützen und zu erhalten gilt. Nicht nur als Trink- und Brauchwasser für den Menschen, sondern auch als Ökosystem mit Plankton, dem Grundglied der Nahrungskette, bildet das Wasser neben Luft die wichtigste Lebensgrundlage für Flora und Fauna auf dieser Erde.

Die jüngsten Umweltkatastrophen an Rhein, Mosel, Saar und Ruhr haben gezeigt, wie sorglos immer noch mit diesem Element umgegangen wird, obwohl das Umweltbewußtsein im individuellen und politischen Denken und Handeln zunehmend breiteren Raum einnimmt.

Es ist daher einerseits notwendig, die zum Schutze des Wassers bestehenden Gesetze (Abwasserabgabengesetz, Trinkwassergesetz, Störfallverordnung u.a.) schärfer als bisher zu überwachen und zum anderen neue, detailliertere Gesetze zum Schließen noch bestehender Lücken zu erlassen.

Als Grundsatz der derzeitigen Umweltpolitik in Bund und Ländern gelten

1. das Vorsorgeprinzip (Vermeidung von Schadstoffanfall),



2. das Verursacherprinzip (Verantwortlichkeit des Verursachers für einen Schaden führt zu einem effizienten Umweltschutz durch wirtschaftliche Eigeninteressen),
3. das Kooperationsprinzip (Zusammenarbeit von staatlichen und gesellschaftlichen Kräften),
4. das Gleichrangigkeitsprinzip (alle politischen Belange sind gleichwertig).

Hauptverursacher der Wasserverschmutzung ist die Industrie (lediglich 142 der 60000 von chemischen Industriebetrieben produzierten Verbindungen sind in die Störfallverordnung aufgenommen). An zweiter Stelle der Verursacherliste steht die Landwirtschaft (noch zu sorgloser Umgang mit den eingesetzten Düngemitteln und Pestiziden sowie mit anfallenden Sickersäften). An dritter Stelle stehen die privaten Haushalte mit einer nicht unerheblichen Abgabe von Wasch- und Spülmitteln sowie Mineralölen u.a..

Aus vielerlei Gründen reichen für eine effiziente Gewässerkontrolle stichprobenartige chemische und physikalische Analysenmethoden nicht aus. Es werden deshalb in zunehmendem Maße biologische Testverfahren eingesetzt, die bei kontinuierlicher Wasserkontrolle

eine Früherkennung drohender Umweltkatastrophen ermöglichen sollen.

In der vorliegenden Arbeit wird die Brauchbarkeit eines auf optisch - optoelektronischer Grundlage arbeitenden Motilitätsmeßverfahrens mit **Panzerwelsen** und **Schlammröhrenwürmern** im Hinblick auf den Einsatz zur Gewässerkontrolle untersucht.

2. LITERATUR

2.1. Zum Stand der Gewässerverschmutzung

Ein Vergleich der Gewässergütekartierungen von 1969 und 1984 verdeutlicht Stand und Entwicklung der Gewässerverschmutzung im südbayerischen Raum. Während z.B. in der Donau, im Bereich von Regensburg, eine deutliche Verbesserung der Wasserqualität erreicht wurde, zeigten stark belastete Flüsse, wie Salzach und Zusam lediglich geringe Abnahmen in ihrer Schadstofffracht. Im Lech sowie im mittleren Isarkanal nahm die Wasserverschmutzung sogar noch zu. Insgesamt muß festgestellt werden, daß die meisten südbayerischen Flüsse mäßig belastet bis stark verschmutzt sind und trotz Umweltschutzbemühungen keine wesentlichen Verbesserungen der Wasserqualität zu erkennen sind. Abbildung 1 zeigt die Gewässergüte der südbayerischen Flüsse (Stand 1984).

2.2. Hauptverursacher der Gewässerverschmutzung

2.2.1. Industrie

Hauptverursacher der Wasserverschmutzung sind nach

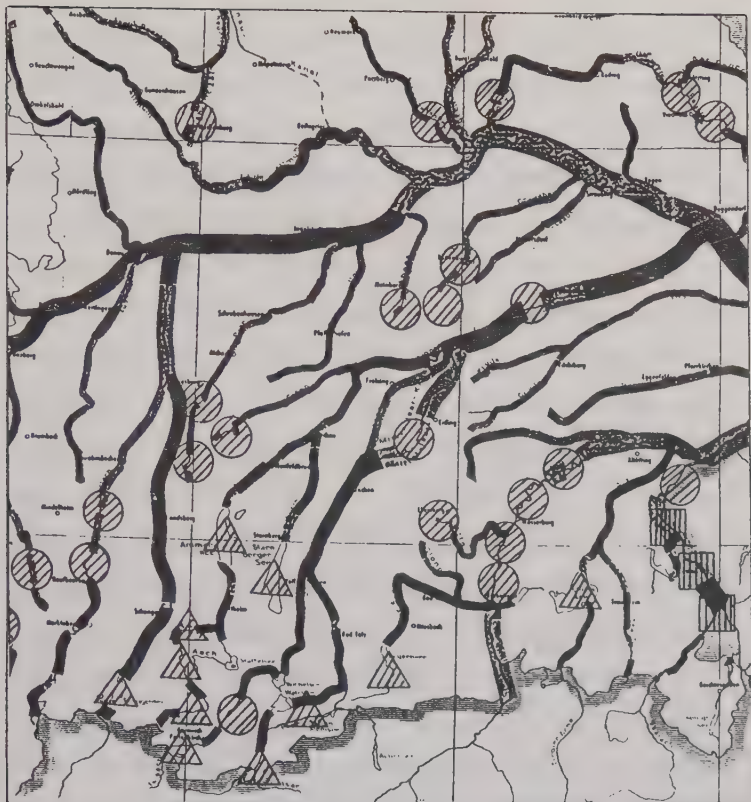


Abbildung 1:

Gewässergüte im südbayerischen Raum, Stand 1984 (vgl. Anhang).

Es bedeuten:



= Güteklasse I - II (unbelastet - gering belastet)

dunkelgraue Felder= Güteklasse II (mäßig belastet)

hellgraue Felder = Güteklasse II - III (kritisch belastet)



= Güteklasse III - IV (stark - sehr stark verschmutzt)



= Güteklasse IV (übermäßig verschmutzt)

wie vor die Industriebetriebe, welche die Gewässer als billige Transportmittel und Deponien für ihre Abfälle benutzen. Nach dem Abwasserabgabengesetz (1976, novelliert 1986) können Industriebetriebe verschiedene Schadstoffe in bestimmten Mengen in unsere Gewässer einleiten. Zum Beispiel erteilte das Regierungspräsidium in Köln der Fa. Bayer die Genehmigung, vom 11.6.1975 bis zum 31.12.1995 täglich unter anderem 602 kg petrolextrahierbare Stoffe, 180 kg Eisen, 30 kg Phenol in insgesamt 60200 m³ Abwasser in den Rhein einzuleiten (HEIMBRECHT und MOLCK, 1987). Dies führt zu einer lokal unterschiedlich hohen Belastung von Flüssen und Seen; besonders betroffen sind dadurch verständlicherweise die industriellen Ballungszentren. Neben diesen erlaubten Gewässerverunreinigungen kommt es zu unkontrollierten zusätzlichen Belastungen durch sogenannte Störfälle. Uns allen noch in Erinnerung ist die Rheinkatastrophe durch die Fa. Sandoz am 1.11.1986. Beim Brand einer Lagerhalle, in der sich Insektizide, Fungizide, Herbizide, Emulgatoren, Lösungsmittel und Stabilisatoren befanden, gelangten größere Mengen dieser Chemikalien mit dem Löschwasser in den Rhein und lösten das größte Fischsterben in der Geschichte des Stromes aus (HEIMBRECHT und MOLCK, 1987). Derartige Katastrophen rissen dann nicht mehr

ab; so gelangten am 12.11.1986 400 Liter Atrazin (Fa. Ciba-Geigy), am 24.11.1986 eine unbekannte Menge eines Herbizides (Fa. BASF), am 27.11.1986 800 kg Methanol (Fa. Bayer) und am 29.11.1986 eine unbekannte Menge an Kupferchlorid und Dichlorbenzol (Fa. Hoechst) in den Rhein.

Diese Liste könnte beliebig fortgesetzt werden. Nur der zunehmenden Aufmerksamkeit der sensibilisierten Bevölkerung ist es zu verdanken, daß die sicherlich sehr hohe Dunkelziffer dieser Störfälle ständig abnimmt.

Vor diesem Hintergrund ist die Notwendigkeit einer kontinuierlichen Gewässerüberwachung zwecks Kontrolle der Einhaltung bestehender Gesetze und zur Ermittlung des Verursachers einer Gewässerschädigung verständlicherweise angezeigt.

Zur Bewertung der wassergefährlichen chemischen Substanzen wurde 1979 vom Bundesministerium des Inneren ein Katalog mit 207 Verbindungen erstellt, die in 4 Gefährdungsklassen eingeteilt wurden. Die Neufassung des Kataloges von 1985 enthält nunmehr 438 Stoffe. Eine Bewertung des Wassergefährdungspotentiales der einzelnen Chemikalien wurde von STEINHÄUSER und AMMON (1985) vorgenommen.

2.2.2. Landwirtschaft

Im landwirtschaftlichen Bereich führen übermäßiger Einsatz von Wirtschaftsdüngern und Pestiziden sowie unkontrollierte Abgabe von Sickersäften aus der Gärfutterbereitung zu einer nicht unerheblichen Belastung von Grund- und Oberflächenwasser.

Gegenüber Haushaltsabwasser enthält Flüssigmist die hundertfache, Jauche die dreißigfache Menge an organischen Substanzen. Bei Einleitung dieser Wirtschaftsdünger erfolgt eine Wassergefährdung durch die direkte sauerstoffzehrende Wirkung dieser Stoffe. Diese Belastung wird bekanntlich durch den sogenannten BSB_5 (= biologischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen) gemessen. Er beträgt beispielsweise für Flüssigmist $25 \text{ g O}_2/\text{l}$. Akutes Fischsterben kann durch den hohen Ammoniakgehalt des eingeleiteten Düngers auftreten.

Die langfristige Wassergefährdung ergibt sich durch die extreme Veralkung der mit Nährstoffen überladenen Gewässer. Bei Einsickern in das Grundwasser besteht die Gefahr, daß der für Trinkwasser unbedenkliche Nitratgehalt von 50 mg/l überschritten wird. Nur eine sachgemäße Lagerung und Ausbringung der Wirtschaftsdünger in der Landwirtschaft ¹⁾ können diese Gefahren

1) siehe entsprechendes Merkblatt des Bayerischen Landesamtes für Wasserwirtschaft, München (1979).

vermeiden.

Eine direkte Einleitung von Sickersäften in die Kanalisation ist verboten. Verschärfte Bauvorschriften für Gärfuttersilos sollen ein unbemerktes Absickern von Gärfutterflüssigkeit in das Grundwasser verhindern. Gegenüber Haushaltsabwässern enthält Gärsaft bis zu 400 mal mehr sauerstoffzehrende Verbindungen. Gelangt Gärsaft in ein Gewässer, tritt deshalb sehr bald Sauerstoffmangel auf. Fischsterben und Fäulnisbeschleunigung sind die Konsequenzen ¹⁾.

Insektizide, Pestizide und Herbizide - aus dem intensiven Pflanzenbau nicht mehr wegzudenken - führen bei gedankenlosem Einsatz zu einer direkten Gefährdung der in den Gewässern lebenden Organismen. Daneben kann es infolge einer Kumulation über die Nahrungskette zu Rückständen in menschlichen Nahrungsmitteln kommen. Die Herstellerfirmen geben über Produktinformationen dem Landwirt zwar Anwendungsempfehlungen, deren Einhaltung jedoch nicht kontrollierbar ist ²⁾.

1) siehe Merkblatt über die Gefährdung durch Gärsäfte II - 1/77 des Bayerischen Landesamtes für Wasserwirtschaft, München (1977)

2) Produktinformation BASF 85/86, Seite 159 - 168: "... entstehende Risiken beim Ausbringen des Herbizides Roundup^R werden vom Hersteller nicht übernommen....., das Mittel ist fischgiftig, die Wartezeit beträgt 30 - 60 Tage. Es bestehen keine Wasserschutzauflagen..... ."

2.2.3. Private Haushalte

In Privathaushalten werden Wasch- und Reinigungsmittel in zunehmendem Maße bedenkenlos eingesetzt. Eine stark ansteigende Tensid- und Phosphatbelastung der kommunalen Abwässer ist die Folge. 1982 wurden in der Bundesrepublik beispielsweise 282600 Tonnen Tenside verbraucht. Darunter befanden sich 148000 Tonnen anionische Verbindungen, 104700 Tonnen nicht ionische, 27000 Tonnen kationische und 1700 Tonnen ampholytische Tenside. Bei 200 Liter Abwasser/Tag/Einwohner in der Bundesrepublik ergibt sich eine durchschnittliche Tensidkonzentration von 49,7 mg/l Abwasser (26,2 mg/l anionische, 18,5 mg/l nicht ionische und 5 mg/l kationische Verbindungen; HUBER, 1985).

2.3. Gesetzliche Maßnahmen zur Gewässerreinigung

Mit dem 1976 verabschiedeten und 1986 novellierten Abwasserabgabengesetz wollte der Gesetzgeber eine Begrenzung der Abgabe ungeklärter Abwässer durch Gebühreneinzug erreichen. So wurde für alle Betriebe, die nicht geklärtes Abwasser in Oberflächengewässer einleiteten, 1986 ein Abgabesatz von 40 DM/Schadenseinheit erhoben. Die Schadenseinheiten werden wie folgt berechnet:

$$SE = \left[JSM \times (BW - GL) \right] \times BF^{1)}$$

Für die Schädlichkeit des Abwassers sind ausschlaggebend die absetzbaren Stoffe, der chemische Sauerstoffbedarf, der Gehalt an Quecksilber und Cadmium sowie die Fischgiftigkeit. Diese Parameter ergeben zusammen den Bewertungsfaktor BF. Die Fischgiftigkeit der Stoffe muß in einem biologischen Testverfahren ermittelt werden. Im Augenblick kommt der Goldorfen-test als das deutsche Einheitsverfahren zur Untersuchung der Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Fische zur Anwendung (vgl. Anhang). Ersatzweise kann auch der Daphnientest (vgl. Anhang) durchgeführt werden.

Es bleibt dahingestellt, ob solche legalisierten Schadstoffeinleitungen im Zeitalter einer immer stärker werdenden Umweltverschmutzung zu verantworten sind.

Im Wasserhaushaltsgesetz (1976) wird für oberirdische Gewässer (§ 26) und für Grundwasser (§ 34) vorgeschrieben, daß "Stoffe nur so gelagert werden dürfen, daß

1) Es bedeuten: SE = Schadenseinheit
JSM = Jahresschmutzwassermenge (Tonnen/Jahr)
BW = Bezugswert
GL = Grundlast
BF = Bewertungsfaktor

eine Verunreinigung des Wassers oder eine sonstige nachteilige Veränderung seiner Eigenschaften nicht zu befürchten ist." Verstöße werden als Ordnungswidrigkeiten (§ 41) oder als Straftaten (§ 38) geahndet. Für Wasserschutzgebiete gelten gesonderte Vorschriften (§ 19).

In diesem Zusammenhang sei noch die Trinkwasserverordnung (1975, novelliert 1984), welche die Anforderungen an Trinkwasser allgemein, die Höchstgehalte an verschiedenen Chemikalien und den Umgang mit Trinkwasser regelt, erwähnt. Die Störfallverordnung (1986) gibt Anweisungen im Umgang mit derzeit 142 wassergefährdenden Stoffen bei Störfällen.

2.4. Testverfahren

Um die Einhaltung der genannten gesetzlichen Vorschriften überwachen zu können, ist es notwendig geeignete Testmethoden in Form von Frühwarnsystemen für eine kontinuierliche Gewässerüberwachung zu entwickeln. Es bieten sich dazu physikalische, chemische und biologische Testverfahren an.

2.4.1. Physikalische und chemische Verfahren

Die deutschen Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung (1982, vgl. Anhang) geben Anweisungen zur Untersuchung der physikalischen und chemischen Beschaffenheit von Wasser. Diese normierten Tests geben einerseits Aufschluß über Trübungsgrad, pH-Wert, Temperatur, Farbe, Sediment sowie elektrische Leitfähigkeit der zu untersuchenden Wasserprobe. Mit den chemischen Analysemethoden wird einerseits der Gehalt an Anionen, Kationen, Kieselsäure, Kohlendioxid und Chlor ermittelt. Diese mit hohem Kosten- und Arbeitsaufwand verbundene Untersuchungsmethodik ermöglicht jedoch lediglich eine stichprobenartige Kontrolle eines Gewässers auf bestimmte Parameter. Etwaige auftretende Kumulationen oder Interaktionen von Giftstoffen werden dadurch aber nicht erfaßt.

2.4.2. Biologische Testverfahren

Im Gegensatz zu physikalisch-chemischen Verfahren erlauben biologische Tests eine kontinuierliche Wasserkontrolle. Darüberhinaus wird dadurch die Wirkung von toxischen Substanzen auf lebende Organismen erfaßt. Diese Methoden können jedoch nur als unspezifische

Screening - Tests eingesetzt werden. Bei positivem Testergebnis muß deshalb verständlicherweise der auslösende unbekannte Schadstoff mit physikalisch - chemischen Analysenverfahren identifiziert werden.

Bei den biologischen Testverfahren müssen zunächst statische und dynamische Verfahren unterschieden werden (REICHENBACH - KLINKE, 1978a). Im statischen Test werden die Versuchstiere während des gesamten Testverlaufes in einem abgeschlossenen Gefäß gehältert. Beim dynamischen Test dagegen wird das Testbehältnis kontinuierlich von Frischwasser bzw. Testflüssigkeit durchströmt.

In Abbildung 2 und 3 ist die Einteilung biologischer Testverfahren hinsichtlich Methodik, Wirkungsformen, Aufgabenstellung und meßbaren Wirkparametern dargestellt. Sie können als Toxizitätstests zur Erkennung der Giftigkeit von Substanzen oder als Gewässertests zur Feststellung von Schadstoffen in Gewässern eingesetzt werden.

Hinsichtlich der Testparameter können beispielsweise Letalitätstests, Schwächungstests und Motilitätstests unterschieden werden (vgl. Abb. 3).

Als Testorganismen werden vorwiegend geeignete Testfische verwendet. Daneben werden aus tierschützerischen Gründen zunehmend wirbellose Versuchstiere für diese Tests eingesetzt.

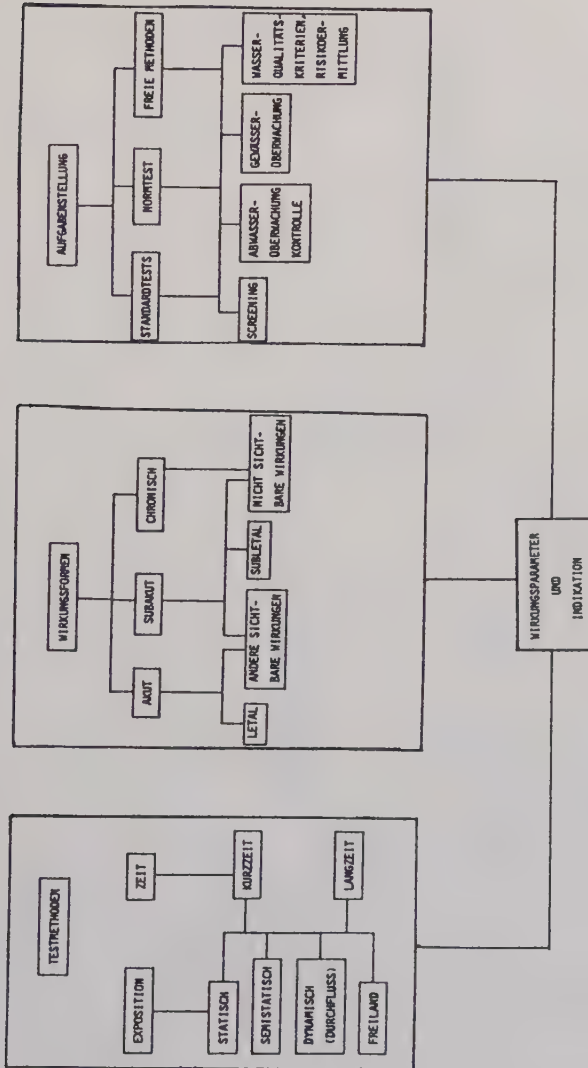


Abbildung 2:

Einteilung der biologischen Tests nach Methodik, Wirkungsformen und Aufgabenstellung (aus METZNER, 1983).

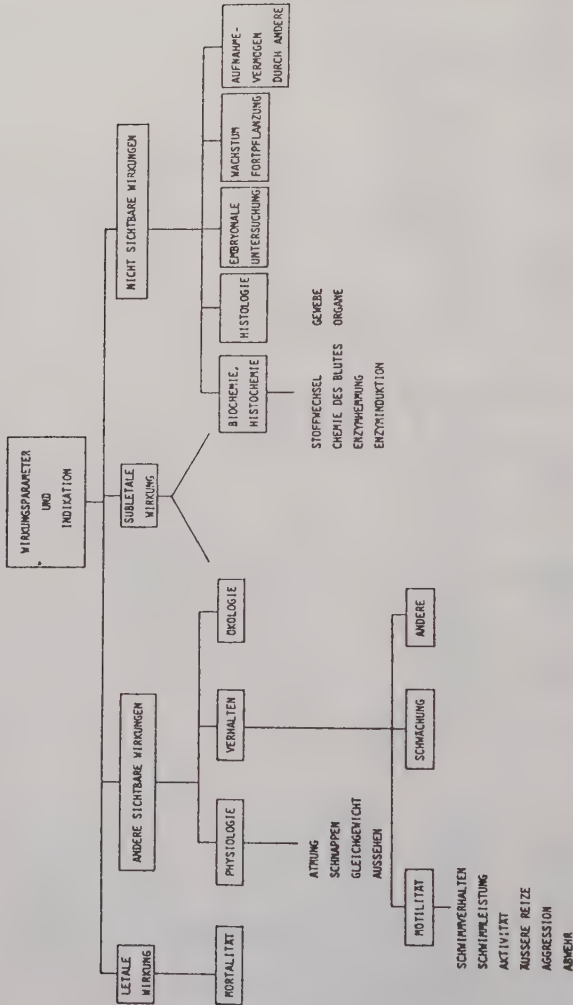


Abbildung 3:

Meßkriterien für Fischtestverfahren (aus MEITZNER, 1983)

2.4.2.1. FISCHTESTS

Letalitätstests

In der BR Deutschland wird der von MANN (1975) entwickelte Test mit Goldorfen (*Leuciscus idus melontosus*) als Standardverfahren verwendet. Die Normierung durch das deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (1982, vgl. Anhang), die Richtlinie der EG (1984) sowie die Guideline der OECD (1983) geben genaue Anweisungen zur Durchführung der Tests. Testparameter ist die letale Dosis 50 einer Substanz auf die Versuchsfische innerhalb 48 Stunden. In Frankreich werden Ellritzen, in Italien Goldfische, in England Regenbogenforellen und Keilfleckbarben, in der DDR und Polen Guppys und in Japan Karpfen als Testorganismen verwendet (BESCH, 1977). Zur Wahl der geeigneten Versuchsfischspezies bestehen unterschiedliche Ansichten. So entschied sich beispielsweise FISCHER (1978) für Goldorfen. Er untersuchte im statischen Test die Empfindlichkeit von Goldorfen und Zebraabärblingen und stellte dabei eine geringgradig höhere Sensibilität bei Goldorfen gegenüber anionischen Tensiden fest. In dynamischen Tests ergab sich für beide Fischarten eine gleiche, jedoch höhere letale

Dosis. Die etwas geringere Empfindlichkeit von Zebra-
bärblingen im subtoxischen Bereich beobachtete auch
WELLER (1982/83) durch die Feststellung der LC 50/
48 h von 29 toxischen Substanzen.

MÜLLER (1983) schlägt dagegen Zebra-
bärblinge als Test-
fische zur Ermittlung der Fischgiftigkeit im Rahmen
des Abwasserabgabengesetzes vor. MÜLLER fand zu dieser
Entscheidung aufgrund der Überprüfung von Kläranla-
genabwasser, wobei er bei Goldorfen eine weitaus
größere Streuung der Resultate feststellte.

Die Anwendung der Goldorfen- bzw. Zebra-
bärblingstests wurde von SCHULZ (1981) grundsätzlich bestritten. Bei
Zebra-
bärblingen handelt es sich nämlich um tropische
Warmwasserfische, deren Verhalten in europäischen Ge-
wässern nicht ohne weiteres übertragen werden kann.
Gegen den Goldorfentest spricht, daß die Fische, um
ganzjährig in einer Größe von 50 - 80 mm (vgl. deut-
sches Einheitsverfahren) zur Verfügung stehen zu kön-
nen, zumeist restriktiv gefüttert werden müssen. Da-
durch wird die Widerstandsfähigkeit der Tiere unkon-
trollierbar beeinflußt. SCHULZ schlägt daher die Ver-
wendung von Forellen oder Karpfen für bundesdeutsche
Verhältnisse vor.

Von BATHE et al. (1972) wurde ein standardisiertes
Testverfahren entwickelt, bei welchem Forellen, Ka-

rauschen, Katzenwelse, Sonnenbarsche und Guppys als Versuchsfische Verwendung fanden. Sie definierten folgende Giftklasseneinteilung:

Für die LC 50/96 h; < 0,5 ppm = hochtoxisch
 0,5 - 5 ppm = toxisch
 5 - 50 ppm = wenig toxisch
 > 50 ppm = nicht toxisch.

REICHENBACH - KLINKE (1978 a) legte dagegen folgende Einteilung fest:

Für die LC 50/48 h; < 10 ppm = hochtoxisch
 10 - 100 ppm = mitteltoxisch
 100 - 1000 ppm = leicht toxisch
 > 1000 ppm = wenig toxisch

Neben einer Zusammenstellung der nationalen und internationalen Regelungen zur Durchführung von Fischtests gibt METZNER (1983) eine weitere Toxizitätsklasseneinteilung an:

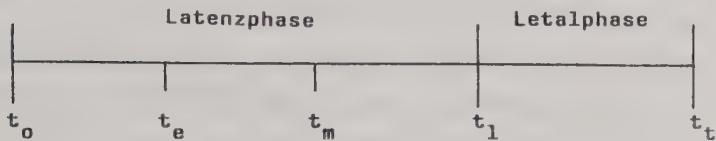
Für die LC 50/48 h; < 1 ppm = stark toxisch
 1 - 100 ppm = toxisch
 100 - 1000 ppm = mäßig toxisch
 1000 - 10000 ppm = schwach toxisch
 > 10000 ppm = praktisch nicht
 toxisch.

Bis heute wird weltweit der Letalitätstest zur Gewäs-

serkontrolle gefordert. Eine Ausnahme macht die Schweiz. Dort ist die Schwimmfähigkeit verschiedener Testfische Meßkriterium in Toxizitätstests. Im Rahmen des Tierschutzes sind auch in der BR Deutschland Bestrebungen im Gange, den Letalitätstest zu ersetzen. Um andere Testparameter als den Tod der Versuchsfische zu definieren, muß deren Verhalten im Vergiftungsfall bekannt sein. REICHENBACH - KLINKE (1980) macht diesbezüglich folgende Unterscheidungen:

- | | | |
|--|---|--|
| 1. Änderung der Lebensäußerungen | } | Meßparameter zur Durchführung akuter Tests. |
| Atemfrequenz | | |
| Schwimmintensität | | |
| Schleimsekretion | | |
| Angriff - und Beutefangverhalten | | |
| 2. Äußere Veränderungen am Körper | } | Meßparameter zur Durchführung subakuter Tests. |
| Verfärbung der Haut | | |
| Schleimbeschaffenheit | | |
| Blutungen | | |
| 3. Änderung der nervösen Äußerungen | } | Meßparameter zur Durchführung chronischer Tests. |
| beginnende Lähmung | | |
| nervöse Reaktionen im Bereich der Sinnesorgane | | |
| 4. Veränderung der Blutparameter | } | |
| Blutzucker | | |
| Hämatokrit | | |
| Cholesterin | | |
| 5. Pathologische Veränderungen an Blut, Milz und Nieren. | } | |
| | | |
| | | |

Das Vergiftungsschema bei Fischen ist nach WUHRMANN und WOKER (1948), REICHENBACH - KLINKE (1971) und KÖRTING (1972) wie folgt gekennzeichnet:



$t_0 - t_e$ = Diffusionsphase

$t_e - t_m$ = Infiltrationsphase

$t_m - t_1$ = Manifestationsphase

$t_1 - t_t$ = Letalphase

$t_0 - t_1$ = Latenzphase

In der Latenzphase ($t_0 - t_1$) ist der Fisch noch voll erholungsfähig. Ist dagegen die Letalphase ($t_1 - t_t$) erreicht, sind die eingetretenen Schädigungen irreversibel. Um das Leben der Testfische zu retten, gilt es nun möglichst früh in dieses Vergiftungsschema einzugreifen und einen geeigneten Meßparameter zu finden.

Die Testfische selbst müssen folgende Bedingungen erfüllen: Sie müssen ganzjährig in ausreichender Menge und guter Qualität in standardisierter Größe zur Verfügung stehen, dürfen keine besonderen Ansprüche an die Haltung stellen und sollten weitgehend unempfind-

lich gegen äußere Reizeinwirkungen sein.

Schwächungstests

Durch Schadstoffeinwirkung kommt es bei Fischen vorübergehend oder irreversibel zu einer Schwimmunfähigkeit. Im stehenden Gewässer manifestiert sich dies in einem Gleichgewichtsverlust der Tiere, in strömendem Wasser in einem Unvermögen der Fische gegen diese Strömung anzuschwimmen. Folgende Parameter können somit meßbar erfaßt werden: Schwimmverhalten und Schwimmleistung, das an der Oberfläche Schwimmen (Surfacting) und die Schwimmunfähigkeit in der Strömung.

Bezüglich der Empfindlichkeit ist der Schwächungstest dem Letalitätstest deutlich überlegen. So bewirkt zum Beispiel Lindan in einer LC 50/48 h bereits nach 10 Minuten die Schwimmunfähigkeit bei Aalen (FOULQUIER, 1971). Zu dem gleichen Befund gelangten LÜDEMANN und NEUMANN (1960) und BESCH et al. (1972) mit Kontaktinsektiziden (DDT) bei einsömrigen Karpfen.

Im "Fischrad" von FRY und HARD (1948), von MÜLLER (1974) wiederentdeckt, müssen die Testfische gegen die, durch die Wandreibung des rotierenden Zylinders entstehende Wasserströmung anschwimmen. In Gegenwart von Schadstoffen läßt die Schwimmleistung der Tiere nach, und

sie werden abgetrieben. Der jeweilige Aufenthaltsort der Versuchsfische im Testgefäß wird durch Beobachtung registriert ¹⁾. Bei der sogenannten Streifenzyklindermethode (WOLF und ZERRAHN - WOLF, 1935; DAMBACH, 1963) wird bei verschiedenen Testfischen ab einer bestimmten Drehfrequenz eines rotierenden Zylinders durch dessen vertikale Schwarz-Weiß-Streifung eine Nachfolgereaktion optisch ausgelöst, die durch auftretende Schadstoffe im Wasser verloren geht. Diese Veränderung des Schwimmverhaltens wird durch Beobachtung der Tiere subjektiv bewertet. Von ZAHNER (1962) wurde ein Strömungstestgerät "Biosens" (Handelsname) entwickelt, bei dem die Rheotaxis der Fische gemessen wird. Durch 2 Ultraschallschranken wird der Aufenthaltsort der Tiere im Testraum kontrolliert. Bei Abwesenheit von Schadstoffen verbleiben die Testfische in dessen vorderen Bereich. Bei einer Schwächung durch toxische Substanzen werden sie in den hinteren Abschnitt des Testraumes abgetrieben, so daß durch Aktivierung der hinteren Ultraschallschranke Alarm ausgelöst wird. JUHNKE (1973) entwickelte ein ähnliches Strömungsgerät, bei dem mechanisch durch

1) Dieser Schwächungstest wurde in der Schweiz zur Gewässerkontrolle durch Verordnung eingesetzt.
(vgl. Eidgenössisches Departement des Inneren, Richtlinien für die Probeentnahme und Normierung der Wasseruntersuchungsmethoden, II/5, Seite 1 - 14; 1971).

den Aufprall der schadstoffgeschwächten Fische auf ein Auslaßgitter Alarm ausgelöst wird. In Verbesserung des von VIVIER und BARBIER (1970) beschriebenen Strömungsbeckens wird in den von BESCH et al. (1974, 1977) entwickelten Anlagen ein intermittierender "Strömungsstress" durch An- und Abschalten einer Umwälzpumpe erzeugt. Der Aufenthalt der Versuchsfische im Testraum wird durch Lichtschranken registriert. Eine elektrische "Scheuchvorrichtung" (Elektroschocks 50 - 400V) "bestraft" die Testfische, wenn sie sich in Abwesenheit von Schadstoffen im hinteren Bereich des Testraumes aufhalten. Sie verbleiben daher gewöhnlich im vorderen Teil und werden erst bei Schwächung durch toxische Substanzen in den rückwärtigen Meßraum abgetrieben. Durch Unterbrechung der dort befindlichen Lichtschranke wird Alarm ausgelöst ¹⁾.

Schwächungstests greifen in einem bereits fortgeschrittenen Stadium des oben beschriebenen Vergiftungsschemas ein. Somit besteht im Hinblick auf eine reduzierte Schädigung der Testfische und eine erhöhte Meßempfindlichkeit die Notwendigkeit andere Parameter, wie bei-

1) Diese Anlage wurde in der Praxis bei der Landesanstalt für Umweltschutz in Baden-Württemberg eingesetzt.

spielsweise Atemfrequenz oder Motilität zu messen.

Atemfrequenzmessung

Ein wesentlicher Parameter für das Erkennen einer Beeinträchtigung des Wohlbefindens von Fischen ist die Veränderung ihrer Atemfrequenz. Dies kann durch Sauerstoffmangel, aber auch durch jede chemische Noxe ausgelöst werden (REICHENBACH-KLINKE, 1976).

HALSBAND (1953) beschrieb eine Methode zur meßtechnischen Aufzeichnung der Atemfrequenz von Fischen. Hierbei wurden mittels zweier, in unmittelbarer Nähe des Kopfes des Versuchsfisches angebrachter Elektroden dessen Kiemenbewegungen erfaßt. Dieses Verfahren wurde später von SPOOR et al. (1971) und HEATH (1972) aufgegriffen und modifiziert. PETRY (1975) benutzte das Prinzip der Magnetinduktion. Hierbei wurde ein kleiner Dauermagnet am Unterkiefer einer Versuchsfische befestigt, die sich frei beweglich in einer von einer Drahtspule umgebenen Plexiglasröhre befand. Die durch die Kiemenbewegungen (Magnetbewegungen) induzierten Spannungsschübe wurden analog durch einen Linienschreiber registriert.

Motilitätstests

Eine Beeinträchtigung des Wohlbefindens von Fischen äußert sich in einem veränderten Schwimmverhalten. Sehr verschiedenartige endogene und exogene Reizwirkungen nehmen darauf Einfluß (REICHENBACH - KLINKE, 1976). In dem hier interessierenden Zusammenhang ist der Einfluß der Wassergüte von besonderer Bedeutung. Vermindert sich diese durch das Auftreten von Schadstoffen, reagieren die Fische letztendlich durch Flucht. Diese Tatsache kann als Grundlage zur Durchführung eines Fischtests genutzt werden (GUNKEL et al., 1983). Hiervon ausgehend wurde eine Anzahl von "Fischflucht-Testanlagen" entwickelt. Häufigste Anwendung fand ein in Y-Form gefertigtes Versuchsgefäß. Das Wasser strömt über zwei kommunizierende Zulaufbecken in ein gemeinsames Ablaufbecken ein. Infolge ihrer Rheotaxis schwimmen die Testfische gleichermaßen in beiden Zulaufbecken gegen die Wasserströmung an. Wird über eines der Zulaufbecken schadstoffhaltiges Wasser eingeleitet, versammeln sich die Fische im unbelasteten Zulaufbecken. Eine derartige Anlage wurde erstmals von ISHIO (1960) eingesetzt. HAMEN und MATTHEW (1972) überprüften die Einwirkungen von Pestiziden auf Moskitofische; SCHERER und NOWAK (1973) die von Fenitrothion, einem

Pestizid, auf Goldfische sowie Folkmer und Leroy (1976) die von 9 verschiedenen Herbiziden auf Regenbogenforellen. CRIPE (1979) studierte die Wirkung verschiedener Abwasserinhaltsstoffe an mehreren Fischarten.

Die genannten Y-Testbecken haben jedoch keine praktische Bedeutung erlangt, da eine kontinuierliche Versuchsdurchführung nicht möglich war bzw. ein ständiger Beobachter anwesend sein mußte. Von GUNKEL et al. (1983) wurde ein Arenabecken zum kontinuierlichen Betrieb entwickelt. Durch unterschiedliche Temperaturen des zulaufenden Wassers wird eine Schichtung im Meßraum erreicht. Dort halten sich die Versuchsfische in dem für sie optimalen Temperaturbereich auf. Beim Auftreten von Schadstoffen fliehen sie in den normalerweise nicht besetzten Meßraumbereich ("Kaltbereich"). Der jeweilige Aufenthaltsort der Versuchsfische (Guppys) im Meßraum wird über 12 Infrarotlichtschranken bestimmt. Die ED 50 (effektive Dosis) ergab sich beispielsweise für Pril^R mit 19 mg/l. Eine ähnliche Apparatur kam bereits früher zum praktischen Einsatz für die kontinuierliche Gewässerüberwachung in Industrieanlagen (CAIRNS et al., 1973). HAFEEZ und BARBER (1976) veröffentlichten ein System, bei dem die Lokomotion von Testfischen in einem Arenabecken

mit Hilfe eines beweglichen, mit Fotozellen bestückten Rotorarmes registriert wurde. Als unsichtbare Lichtquelle diente eine im Zentrum des Arenabeckens angebrachte Infrarot-Lampe.

Neben diesen optischen Verfahren zur Motilitätsmessung wurden auch auf anderen physikalischen Wirkprinzipien basierende Methoden eingesetzt.

So benutzten beispielsweise CORTI und WEBER (1948) ein Zitter- bzw. Schwingbehältnis, dessen durch die Tierbewegung bedingte Elongationen in geeigneter Weise gemessen wurden. HEMPEL et al. (1956) registrierten die Bewegungsaktivität von Flundern, indem sie mittels einer Waage das Gewicht eines mit einer Flunder besetzten Gitterkäfiges kontinuierlich feststellten; in der Ruhephase lag die Flunder auf dem Käfigboden, so daß die Waage Käfiggewicht plus Tiergewicht anzeigte. SPOOR (1946) ermittelte die Bewegungsaktivität seiner Versuchsfische indirekt, indem er die Bewegungen eines in das Versuchsbecken eintauchenden vierflügligen Aluminiumrades registrierte. Diese Bewegungen des Flügelrades wurden von Wasserströmungen ausgelöst, die bei Bewegung der Tiere auftraten. Ähnlich verfahren RUHLAND und HEUSNER (1959). Sie erfaßten durch Fischbewegungen erzeugte Wasserwellen über ein Schwimmersystem. Ein thermisches Verfahren wandten BEAMISH und

MOOKHERJII (1964) zur Feststellung der Motilität von Versuchsfischen an; ein im Versuchsbecken direkt neben dem Heizstab angebrachter Thermofühler registrierte die als Maß für die Tierbewegung durch die entsprechende Wasserbewegung bedingte Abkühlung. Eine Verbesserung dieses Verfahrens fanden HEUSNER und ENRIGHT (1966) durch Verwendung von 2 Thermistoren, von denen einer durch ein Ummantelungsrohr gegen abkühlende Wasserwellen geschützt war. Der Temperaturunterschied zwischen dem geschützten und dem ungeschützten Thermistor wurde in einer Wheatstone'schen Meßbrücke ermittelt.

Auch auf "akustischer" Basis wurde eine Motilitätsmessung an Fischen versucht. So registrierte BYRNE (1970) mittels Ultraschallsensoren die Bewegungsaktivität seiner in einem Ringkanal schwimmenden Testfische. CUMMINGS (1963) sowie MEFFERT (1968) wendeten den Doppellereffekt zur Motilitätsmessung bei Fischen an. Hierbei wird bekanntlich die Frequenzänderung von Schallwellen durch Reflexion am sich bewegenden Objekt gemessen. Mit Hilfe magnetischer Marken gelang es LILLELUND (1967) die lokomotorische Aktivität von Plattfischen zu studieren. Er befestigte kleine Dauermagnete an den Versuchsfischen und bestimmte ihren jeweiligen Aufenthaltsort mittels einer Sonde wie sie

zum Auffinden magnetischer Störfelder dient. Die zuverlässigste meßtechnische Aufzeichnung von Lokalmotilität und Lokomotion an Versuchstieren gelang erstmals PETRY (1970) durch Anwendung der Magnetinduktion. Dieses Verfahren kam dann zur Durchführung des Motilitätstests mit Forellen als Frühwarnsystem in der Gewässerkontrolle zum Einsatz (PETRY, 1975, 1976). Die Dauermagnete wurden den Versuchsfischen zunächst äußerlich am Unterkiefer befestigt, später in die Leibeshöhle implantiert. Die Versuchsfische konnten sich frei im sensiblen Bereich einer Drahtspule bewegen. Die durch die Tierbewegungen (Magnetbewegungen) in der Spule induzierten Spannungsschübe wurden als Maß für die Bewegungsaktivität der Tiere in geeigneter Weise als Aktogramm aufgezeichnet. Die Brauchbarkeit des Motilitätstests mittels magnetmarkierter Forellen wurde mit verschiedenen Schadstoffen überprüft. Das Verfahren wurde für Labor- und Freilandtests vervollkommen (EICHENBERGER, 1982; PETRY, 1982; MÜLLER, 1984).

2.4.2.2. TESTS MIT ANDEREN ORGANISMEN BZW. OBJEKTEN

Im Rahmen des Tierschutzes und in Erfüllung des 1987 novellierten Tierschutzgesetzes sollte versucht werden, die bisher zur Gewässerkontrolle hauptsächlich einge-

setzten Fische durch andere, in der zoologischen Systematik niedriger stehende Organismen zu ersetzen. Bioessays können in 4 Klassen eingeteilt werden (BESCH, 1977):

1. Biochemische Tests
2. Tests mit Intraorganismen (Organe, Organelle, Zellen)
3. Tests mit Organismen (Individuen)
4. Biozönotische Tests

Diese 4 Klassen unterscheiden sich im Grade ihrer Reproduzierbarkeit. So sind biozönotische Tests zwar sehr wirklichkeitsnah, eine exakte Reproduzierbarkeit von Testergebnissen ist jedoch aufgrund von Interaktionen der komplex miteinander verknüpften Vorgänge nicht zu erwarten.

Biochemische Tests

Biochemische Tests sollten als screening - Tests für andere biologische Methoden eingesetzt werden (OBST et al., 1985). So setzt beispielsweise Urease Harnstoff in NH_3 und CO_2 um. Der dadurch bedingte pH-Anstieg kann titrimetrisch erfaßt werden und läßt Rückschlüsse auf die Urease - Aktivität zu. Diese kann nun durch im Wasser auftretende Schadstoffe beeinträchtigt werden. Nachteilig ist jedoch, daß lediglich Schwer-

metalle eine Ureasehemmung verursachen und deshalb andere im Wasser auftretende Giftstoffe nicht erfaßt werden können.

Intraorganismische Tests

Intraorganismische Tests lassen sich mit Zellkulturen aus verschiedenen Fischorganen durchführen. So berichteten beispielsweise GRAPPUSO und KINTER (1973), daß durch das Insektizid DDT die Tätigkeit der Nierentubuli von Goldfischen bereits bei einer Konzentration von 28 mg/l gehemmt wird. SPIEGELBERG et al. (1984) veröffentlichten ein Testsystem mit Regenbogenforellen-Hepatozyten auf Zellkultur-Basis und beobachteten eine Relation zwischen den ATP-Gehalten der Zellen und den sie belastenden Schwermetallkonzentrationen.

Tests mit Organismen

1. Bakterien

Als primitivste Organismen können Bakterien als Testorganismen Verwendung finden. Hierauf wiesen LAUBENBERGER und HARTMANN (1970) hin, indem sie über große Unterschiede zwischen grampositiven und gramnegativen

Bakterienarten hinsichtlich ihrer Sensibilität gegenüber verschiedenen im Wasser auftretenden Schadstoffen berichteten. BRINGMANN und KÜHN (1960) benutzten gramnegative *Pseudomonas* fluoreszens und beurteilten deren Wachstumshemmung durch Schadstoffe in der Kultur. Bekannt ist auch der Microtox^R - Test (VASSEUR et al., 1984), bei dem die Luminiszenzabnahme von *Photobacterium phosphoricum* bei Schädigung durch toxische Industrieabwässer untersucht wird. Erwähnenswert ist, daß die Testergebnisse in guter Übereinstimmung zu den Resultaten des Daphnientestes (s. Seite 36) stehen. Ein Motilitätstest mit *Spirillum volutans* wird von MOORE (1984) beschrieben. Die Bewegungen der Bakterien wurden mit Hilfe eines Photomikroskopes erfaßt. In einer vergleichenden Studie kamen DUTKA und KWAN (1984) zu dem Ergebnis, daß bezüglich der Empfindlichkeit der Microtox^R - Test den beiden anderen Bakterientests deutlich überlegen ist.

2. Protozoen

Protozoen als Indikatoren für Gewässerverschmutzungen benutzte BUCK (1968). Anhand der Sterberate von Ciliaten bewertete er das Abwasser der 2. Reinigungsstufe von verschiedenen Kläranlagen. Nach einer Mitteilung von BESCH (1977) sollen Pantoffeltierchen (Pa-

ramaecien), die z.B. in den Einheitsverfahren der DDR als Testorganismen verwendet werden, relativ schadstoffresistent sein und deshalb nur wenig charakteristisch auf im Wasser auftretende Schadstoffe reagieren. Über die wachstumshemmende Wirkung von Schwermetallen auf *Euplotes* spp. berichteten PERSOONE und UYTTERSPROT (1975). In unbelasteten Gewässern beträgt die Generationsfolge dieser Ciliaten 7/48 h. In schadstoffbelastetem Wasser können somit aus der Zahl der nach 48 Stunden entnommenen Protozoen Rückschlüsse auf die Toxizität der verwendeten Schadstofflösung gezogen werden. CAIRNS und RUTHVENT (1973) belasteten *Vorticella* - Arten aus einem Tropfkörperbewuchs mit toxischen Substanzen, die sie für die Umwelt als unschädlich einstufte, wenn bei den Einzellern nach 3 Stunden keine Letalität auftrat.

3. Algen

Verschiedentlich wurden auch Algen in Toxizitätstests verwendet. HARRIS et al. (1970) untersuchten beispielsweise die Photosyntheserate von Phytoplankton, welche bereits durch 1 µg Quecksilber deutlich gehemmt wurde. In Zellvermehrungshemmungstests mit Blaualgen (*Microcystis aeruginosa*) und Grünalgen (*Scenedesmus quadricauda*) prüften BRINGMANN und KÜHN (1978) die Toxizi-

tät von 180 potentiellen Schadstoffen. Im Hinblick auf Bioakkumulation von sedimentgebundenen Schwermetallen studierte AHLF (1985) die Wachstumshemmung von Grünalgen.

4. Komplexe Vielzeller

Einen Überblick über verwendbare vielzellige Testorganismen als Alternative zum Fisch gibt REICHENBACH - KLINKE (1978 b):

Plathelminthes: *Planaria gonocephala*
Policelis nigra

Aschelminthes: *Rotatoria* spp.

Mollusca: *Lymnaea stagnalis*

Annelida: *Tubifex tubifex*

Crustacea: *Daphnia magna*
Cyclops spp.
Gammarus spp.

Antennata: Ephemeriden - Larven
Culex - Larven

Echinodermata: *Sphaerechinus granularis*

REICHENBACH-KLINKE (1978 b) machte darauf aufmerksam, daß die LC 50 dieser Vielzeller eher denen von Fischen vergleichbar sind als die von Einzellern oder Bakterien. Dennoch ist eine direkte Übertragung der Ergebnisse auf den Fischtest seiner Meinung nach nicht möglich. Am geeignetsten scheint der Daphnientest zu

sein. Eine Bestätigung findet sich durch die Untersuchungen von KNIE et al. (1983). Sie stellten beim Vergleich von Goldorfentest (Letalität), Daphnientest (Schwimmfähigkeit), Algentest (eingeschränkte O_2 -Produktion) und Bakterientest (eingeschränkter O_2 -Verbrauch) fest, daß die Ergebnisse zwischen Goldorfen- und Daphnientest am besten korrelierten.

Daphnientest

Im deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammbiologie (vgl. Anhang) wird die Standardisierung des Daphnientests beschrieben. Als Modellorganismus dient *Daphnia magna*. Zum Test werden die Tiere der zu prüfenden Schadstofflösung unter standardisierten Bedingungen ausgesetzt. Nach 24 Stunden wird die Anzahl der toten Individuen bestimmt.

Nach MALZ und REICHERT (1983) läßt sich der Daphnientest methodisch wie folgt einteilen:

Testkriterium ist die Letalität

1. statischer Test, entsprechend DIN 38412;
2. dynamischer Test mit kontinuierlichem Durchfluß der Schadstofflösung;
3. semistatischer Test mit intermittierendem Wasserwechsel;

Testkriterium ist die Motilität

4. Aktivitätstest: Die Schwimmaktivität der Daphnien wird im dynamischen Testverfahren mittels Lichtschranken registriert. Die Meßimpulse werden kontinuierlich aufgezeichnet und lösen bei Überschreiten eines Grenzwertes ein Alarmsignal aus (KNIE, 1982).

Weiterhin können die Reproduktionsrate der Daphnien (BIESINGER, 1972), ihre Herzfrequenz (MEIJERING, 1958) oder ihr örtliches Wahlverhalten in einem U-förmigen Glasrohr ¹⁾ (PENNAK, 1973) als Meßparameter dienen.

Tests mit Tubifex tubifex

Die im Süßwasser lebenden Tubificiden werden bisher lediglich in Letalitätstests eingesetzt. Verwendung fand hauptsächlich Tubifex tubifex Müller. So veröffentlichte POLSTER (1973) Ergebnisse über die LC 50 bei Tubifex und Daphnien unter Einwirkung von Heptachlor und Heptachlorepoxyd. ALFORT et al. (1980) berichteten über Letalitätstests an Tubificiden mit Saponinen, Anthelmintika, Chinocain-HCl und Strychninnitrat. AMMON (1985) ersetzte den in der Schweiz zur Prüfung von Pestiziden üblichen Regenwurmtest durch eine standardisierte Toxizitätskontrolle an Tubificiden. Als Meßparameter diente die LC 50.

¹⁾ vgl.: Y-Becken im Fischtest.

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. Motilitätsmeßverfahren

3.1.1. Meßprinzip

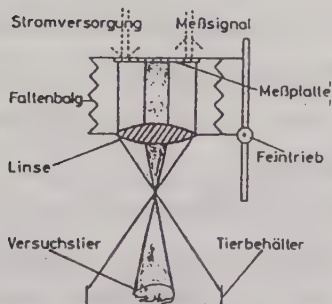
Das hier eingesetzte Motilitätsmeßverfahren (PETRY, 1983) arbeitet auf optisch-optoelektronischer Grundlage. Eine Vorrichtung zur optisch-optoelektronischen Motilitätsmessung bei Tieren ist in Abbildung 4 dargestellt.

Mittels einer optischen Linse ¹⁾ wird der mit dem Versuchstier besetzte Tierbehälter auf eine lichtempfindliche Meßplatte abgebildet. Die Meßplatte besteht aus mehreren, nebeneinander in einer Ebene angeordneten Fotowiderständen, die in einer Wheatstone'schen Brückenschaltung miteinander verbunden sind.

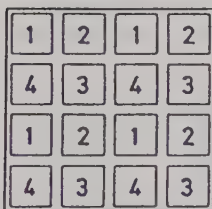
Die Registrierung der Bildwanderung (= Tierbewegung) erfolgt aufgrund der besonderen elektrischen Verschaltung der Fotowiderstände (Abb. 5): das wandernde Bild trifft nämlich stets auf einen Fotowiderstand aus einem anderen Brückenweig. Die optische Linse und die Meßplatte sind entsprechend Abbildung 4a in die beiden Öff-

1) Bikonvex-Linse, $f = 50 \text{ mm}$; PHYWE

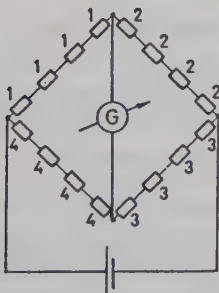
nungen eines Faltenbalges ¹⁾ montiert, mit welchem die Scharfeinstellung (Änderung der Bildweite) der Abbildung erreicht wird.



a. Darstellung des optischen Meßprinzips



b. Geometrische Anordnung der Fotowiderstände auf der Meßplatte



c. Elektrische Verschaltung der Fotowiderstände (Wheatstone'schen Meßbrücke)

Abbildung 4:

Vorrichtung zur optisch-optoelektronischen Motilitätsmessung bei Tieren (aus PETRY, 1983)

¹⁾ Revue Balgengerät, QUELLE

3.1.2. Aufbau der Meßplatte

Zur Herstellung der hier benutzten Meßplatte wurde eine 40 x 40 mm große, kupferbeschichtete Platine entsprechend der in Abbildung 5 aufgezeigten elektrischen Verschaltung geätzt. Die Meßplatte wurde mit 16 Fotowiderständen ¹⁾ bestückt. Diese wurden aus insgesamt 120 Fotowiderständen aufgrund ihrer bei drei verschiedenen Beleuchtungsintensitäten (Glühbirne 15, 40 und 100 W) übereinstimmenden Widerstandswerte ausgewählt. Die Fotowiderstände (Durchmesser 7 mm) wurden entsprechend Abbildung 5 dicht nebeneinander in einer Ebene mit 10-Sekundenkleber (UHU) fixiert.

3.1.3. Meßwertverarbeitung

Abbildung 6 zeigt die Weiterverarbeitung und Registrierung der Meßwerte: die in der Meßplatte M bei Bewegung des Tieres auftretenden Änderungen des Brückenstromes werden in dem Modul FV durch 2 Festverstärker V_1, V_2 und einen Regelverstärker V_3 stufenweise verstärkt. Der Eliminierung externer Störsignale dienen 2 Tiefenpaßfilter F_1, F_2 .

1) Fotowiderstand, Type LDR 07, VALVO

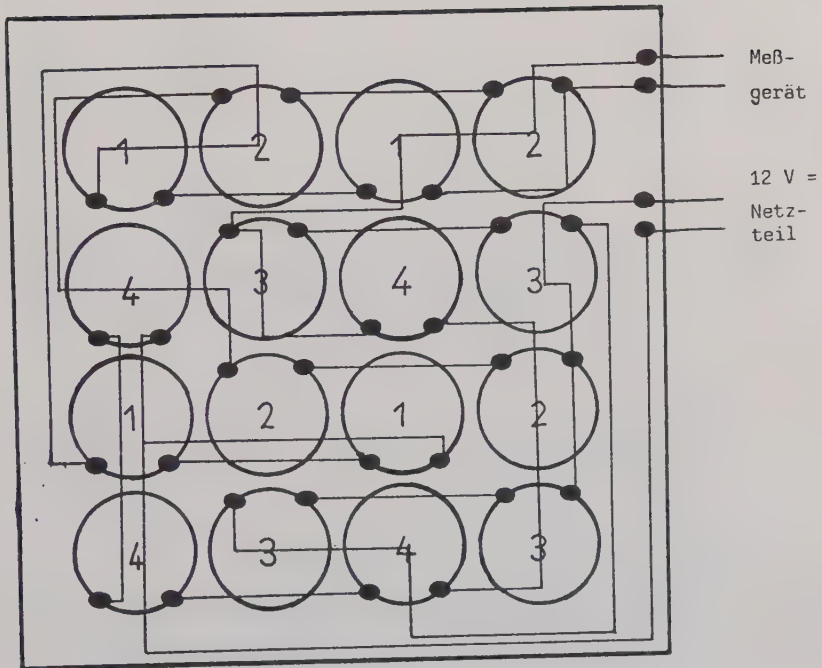


Abbildung 5:

Aufbau und Verschaltung der Meßplatte

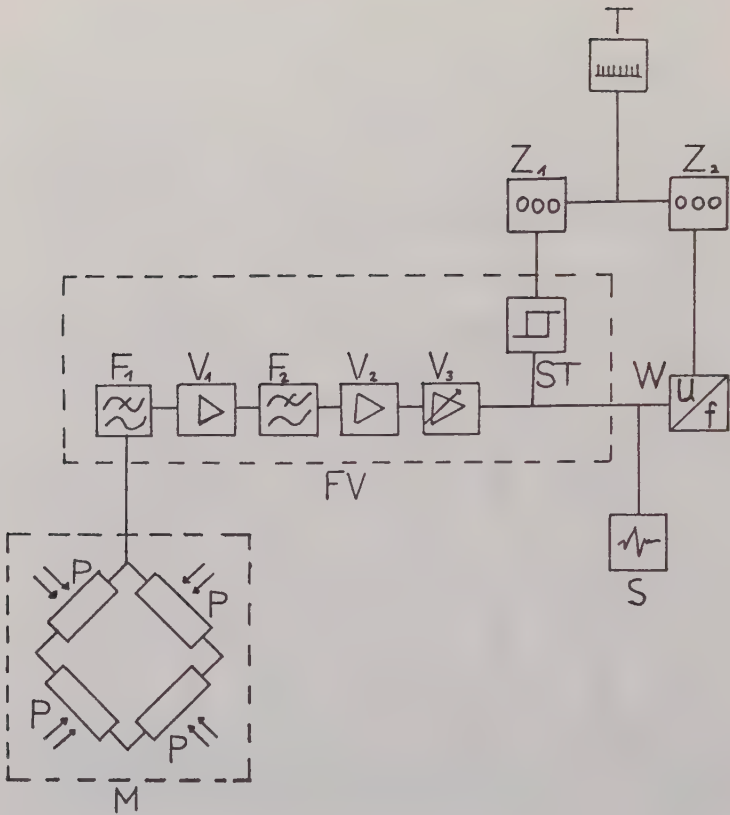


Abbildung 6:

Blockschaltbild der Meßvorrichtung

Die Stromänderungen werden in analoger Form als **Akto-**
gramm durch einen Zweikanallinienschreiber ¹⁾ S re-
gistriert.

Zur **quantifizierten** Messung der Tierbewegung werden
die Stromänderungen (Amplituden) durch einen Spannungs-
Frequenz-Wandler **W** in adäquate Digitalimpulse umge-
setzt. Diese werden von einem Zähler **Z₂**, einem modi-
fizierten Tischrechner ²⁾, registriert.

Zur Erfassung der **Bewegungshäufigkeit** werden darüber-
hinaus alle Stromänderungen unabhängig von ihrer Größe
durch einen Schmitt-Trigger **ST** in gleich große Zähl-
impulse umgewandelt, die auf einen weiteren Zähler **Z₁** ²⁾
übertragen werden.

Die in beiden Zählern **Z₁, Z₂** auflaufenden Meßimpulse
werden in vorwählbaren, durch einen Taktgeber **T** ge-
steuerten Zeitintervallen numerisch ausgedruckt.

3.2. Durchführung von Motilitätstests mit kleinen Versuchsfischen (Zierfische)

3.2.1. Meßvorrichtung

Die zur Durchführung des Motilitätstests mit Versuchs-

1) Kompensograph XT, SIEMENS

2) Tischrechner Privileg 1215 PMD, QUELLE

fischen entwickelte Meßvorrichtung zeigt Abbildung 7.
Der schematische Aufbau wird in Abbildung 8 wiederge-
geben.

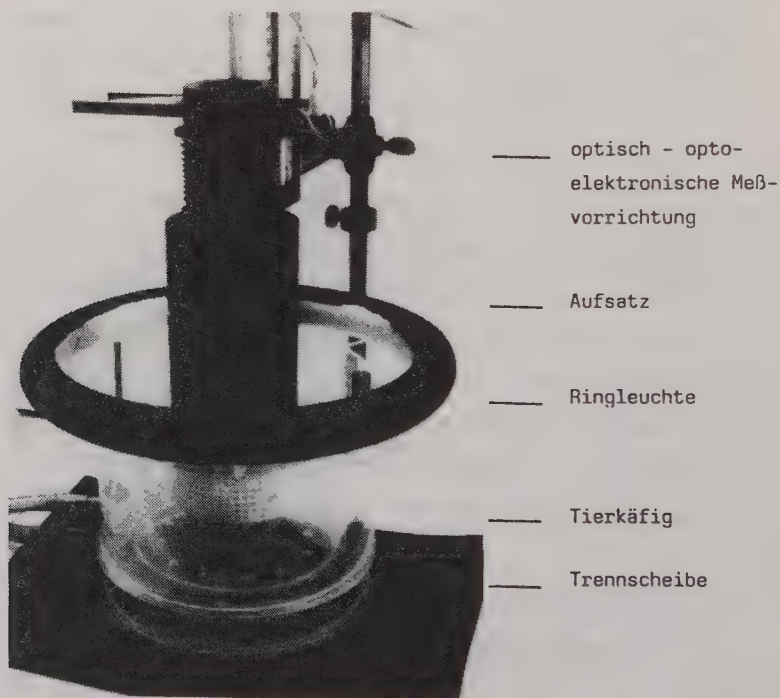


Abbildung 7:

Meßvorrichtung zur Durchführung des Motilitätstests mit
Versuchsfischen

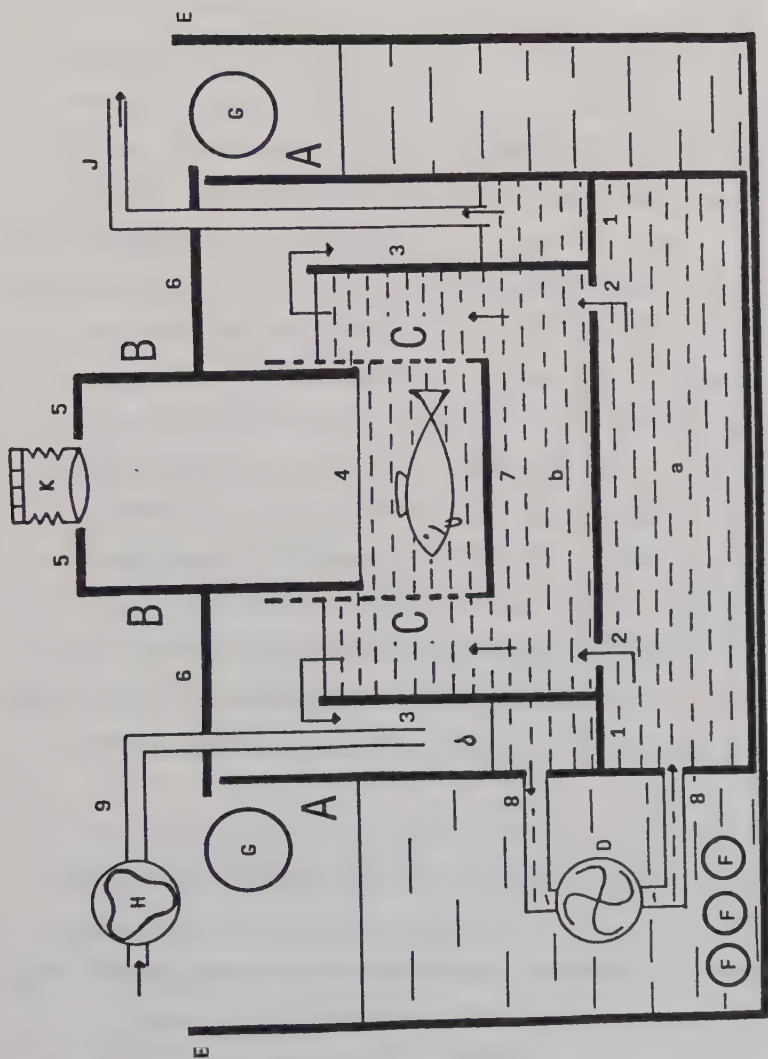


Abbildung 8:

Funktion und schematischer Aufbau der Meßvorrichtung (vgl. Text)

Das eigentliche Versuchsgefäß besteht aus dem Wassergefäß A, dem Aufsatz B und dem Tierkäfig C.

Das Wassergefäß A ist eine 160 mm hohe, unten geschlossene Plexiglasröhre mit 200 mm Durchmesser. Etwa 30 mm über dem Gefäßboden ist eine Trennscheibe 1 aus Plexiglas dicht eingeklebt. Die Scheibe ist mit zwölf 5 mm-Bohrungen 2 versehen, die regelmäßig im Kreis mit 55 mm Abstand zum Mittelpunkt angeordnet sind. Der Trennscheibe ist von oben ein 140 mm weites und 90 mm hohes Plexiglasrohr 3 konzentrisch aufgeklebt.

Der Aufsatz B ist ein 175 mm hohes Plexiglasrohr mit einem Außendurchmesser von 90 mm. Die untere Öffnung des Rohres ist mit einer 3 mm dünnen, transparenten Plexiglasscheibe 4 dicht verklebt; die obere Öffnung ist durch einen Plexiglasring 5 auf 45 mm verengt. Außen an dem Plexiglasrohr ist im Abstand von 25 mm zum unteren Rand ein Plexiglasring 6 kragenförmig angebracht, mit welchem der Aufsatz B dem Wassergefäß A aufliegt.

Dem unteren Ende des Aufsatzes B ist der auswechselbare Tierkäfig C unbeweglich aufgesteckt. Der Tierkäfig ist 45 mm hoch und aus einem Kunststoff-Filterrohr ¹⁾ mit einem Außendurchmesser von 99 mm gefertigt.

¹⁾ Filterrohr Type R 19/1, Werkstoff NPE, Lochgröße 4,0 x 2,5 mm; NORDEUTSCHE SEEKABELWERKE AG.

Den Käfigboden 7 bildet eine nicht transparente, weiße Plexiglasscheibe.

Zur Wasserumwälzung in dem Wassergefäß A dient eine untertauchbare Kreislaspumpe D ¹⁾, die zwecks Minimierung des Totvolumens über möglichst kurze PVC-Schläuche mit dem Zu- und Ablaufstutzen (10/8 mm) 8 des Wassergefäßes A verbunden ist.

Das Versuchsgefäß befindet sich zusammen mit der Umwälzpumpe in einem 600 x 150 mm großen Wasserbad E ²⁾ etwa 140 mm tief eingetaucht. In dem Wasserbad E ist eine aus PVC-Rohr (10/8 mm) gefertigte Kühltaschlange F installiert, durch welche ständig kaltes Leitungswasser strömt. Auf diese Weise können auch bei hohen Raumtemperaturen (Sommer) niedrige Wassertemperaturen (z.B. < 20° C) erreicht werden. Der Tierkäfig C wird durch eine entsprechend positionierte Ringform-Leuchtstofflampe G ³⁾ gleichmäßig ausgeleuchtet.

3.2.2. Funktionsweise

Vor der Durchführung eines Tests werden von dem Ver-

1) Aquarienfilterpumpe, Type 1024, Förderleistung 5,3 l/min; EHEIM

2) Wasserbad, Type 5644; KOTTERMANN

3) 30 Watt, Durchmesser 30 cm; OSRAM

suchsgefäß die Verteilerkammer a sowie die innere Meßkammer b vollständig, die äußere Ringkammer c soweit mit Wasser gefüllt, daß die Umwälzpumpe D keine Luft ansaugt. Diese Füllmenge wurde für das beschriebene Versuchsgefäß mit 2500 ml bestimmt und für alle Tests beibehalten. Die Umwälzpumpe D gewährleistet eine kontinuierliche Durchströmung des gesamten Systemes. Das Wasser wird zunächst in die Verteilerkammer a eingepumpt und strömt dann - über die Löcher in der Trennscheibe 1 gleichmäßig verteilt - durch die Meßkammer b nach oben an dem Tierkäfig C vorbei. Durch Wirbelbildungen an der Käfigwandung (Lochgitter) kommt es zu ständigem Austausch und zur kontinuierlichen Durchmischung des Wassers innerhalb des Tierkäfiges. Das Wasser läuft dann aus der Meßkammer b über den oberen Rand des Plexiglasrohres 3 in die äußere Ringkammer c des Wassergefäßes A ab. Damit das Wasser gleichmäßig verteilt über den gesamten Rand des Plexiglasrohres 3 abfließt und somit die Meßkammer b gleichmäßig in vertikaler Richtung durchströmt wird, ist das Versuchsgefäß mittels einer "Libelle" exakt in der Waagerechten justiert. Durch das Abfließen des Wassers in die äußere Ringkammer c kommt es stets zu einer ausreichenden Sauerstoffanreicherung.

Die Einleitung der zu untersuchenden Schadstofflösung

in das Versuchsgefäß erfolgt mittels einer regulierbaren Dosierpumpe H ¹⁾ über einen dünnen Silikonschlauch (Querschnitt 1 mm²) 9 direkt vor dem Zulaufstutzen 8 der Umwälzpumpe D ("Eintropfstelle"). Damit wird die sofortige und vollständige Einmischung der Schadstofflösung in das Wasser erreicht.

Um bei Dauereinleitung von Schadstofflösungen in Langzeitversuchen die Wassermenge im Versuchsgefäß konstant halten zu können, befindet sich an dem Versuchsgefäß ein mit einer Wasserstrahlpumpe verbundenes Absaugrohr J.

Der Aufsatz B des Versuchsgefäßes dient zur Justierung und Fixierung des optisch-optoelektronischen Meßwertaufnehmers (OOM) K bezüglich Abstand und optischer Achse über dem Tierkäfig. Die Höhe des Aufsatzes B von 175 mm entspricht der nach Linsenformel ²⁾

$$\frac{1}{f} = \frac{1}{b} + \frac{1}{g}$$

und Abbildungsmaßstab

$$\frac{B}{G} = \frac{b}{g}$$

berechneten Gegenstandsweite, die für alle Tests gleich bleibt.

1) IKA-Schlauchpumpe PA-SF 5; JANKE & KUNKEL

2) Es bedeuten: f = Brennweite; b = Bildweite; g = Gegenstandsweite; B = Bildgröße; G = Gegenstandsgröße.

Zur Vermeidung von Fehlmessungen durch von außen einfallendes Streulicht ist der gesamte Aufsatz 8 mit Ausnahme der Bodenplatte 4 schwarz eingefärbt. Diese befindet sich ca. 10 mm unterhalb des Wasserspiegels, so daß Meßfehler durch Wellen der Wasseroberfläche in der Meßkammer b ausgeschaltet sind.

3.2.3. Prüfung der Durchmischung im Tierkäfig

Geschwindigkeit und Homogenität des Wasseraustausches innerhalb des Tierkäfiges wurden durch Zugabe einer 1%-igen wässrigen Methylenblaulösung überprüft. Dazu wurden mittels einer Pipette 0,1 ml der Lösung dem Wasser im Versuchsgefäß an der "Eintropfstelle" (vgl. Seite 49) sehr schnell zugespritzt. Die im Tierkäfig durch Zugabe des Methylenblaus ausgelöste "Verdunkelung" wurde mit Hilfe des OOM registriert. Der zeitliche Verlauf der Brückenstromänderung wurde durch den Kompensograph analog aufgezeichnet (Abb. 9). Die vollständige Durchmischung im Tierkäfig war erreicht, wenn der Brückenstrom sich asymptotisch auf den neuen Meßwert eingestellt hatte. Die Durchmischungszeit, d.h. die Totzeit des Systemes, wurde durch die Zeitspanne von Methylenblauzugabe bis zum Erreichen des Maximalwertes angezeigt. Sie wurde bei insgesamt 8 Messungen mit durchschnittlich $20,58 \pm 1,9$ Sekunden bestimmt.

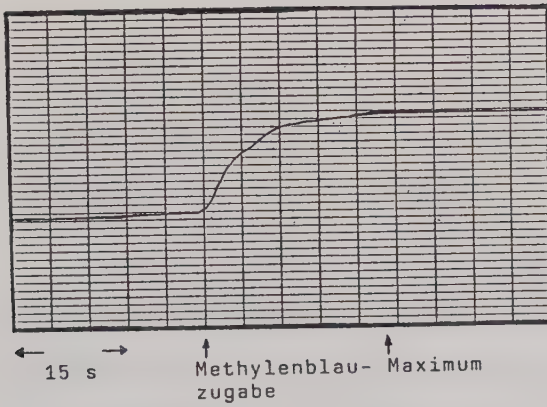


Abbildung 9:

Zeitlicher Verlauf der Durchmischung im Tierkäfig

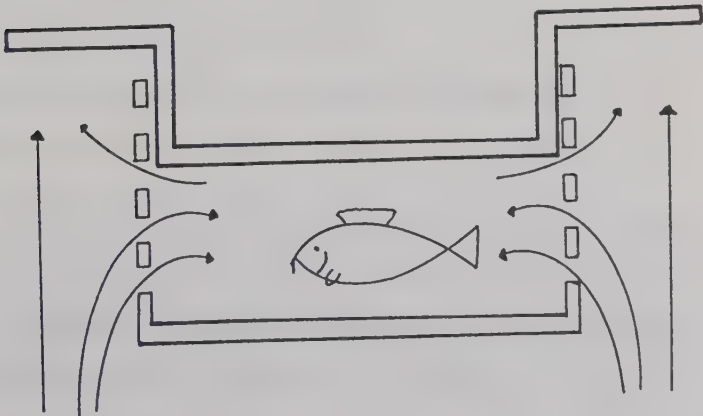


Abbildung 10:

Strömungsverhältnisse im Bereich des Tierkäfiges

3.2.4. Registrierung der Meßwerte

Die beschriebene Meßvorrichtung (vgl. Seite 40) ermöglicht zur graphischen Darstellung der Bewegungsaktivität der Versuchstiere die analoge Aufzeichnung der Tierbewegungen entsprechend der Bewegungsgröße als Aktogramm (Abb. 11 a) oder/und die Aufzeichnung der Bewegungshäufigkeit nach Digitalisierung der Tierbewegungen ohne Berücksichtigung der Bewegungsgröße (Abb. 11 b). Für die nachstehenden Versuche wurde wegen der besseren Transparenz die Registrierung der Bewegungshäufigkeit gewählt.

Zur numerischen Auswertung der Meßdaten wurde die quantifizierte Messung der Tierbewegungen eingesetzt. In den Untersuchungen zur Feststellung des physiologischen Bewegungsverhaltens der Testfische wurden die Meßimpulse in 6 Minuten - Intervallen, bei den Schadstofftests dagegen in 1 Minuten - Intervallen registriert.

3.2.5. Auswahl der Testfischspezies

Zwecks Eignung als Testfische wurden folgende Zierfischarten bezüglich ihres Bewegungsverhaltens untersucht:

- a. Panzerwelse (*Corydoras schulzei*)
- b. Streifenhechtlinge (*Epyplatys dageti*)
- c. Guppys (*Lesbistes reticulatus*)
- d. Zebrabärblinge (*Brachydanio rerio*)

Zur Eingewöhnung wurden die Tiere bereits 24 Stunden vor Versuchsbeginn im Hälterungsbecken in die Tierkäfige eingesetzt. Die Messung erfolgte über 24 Stunden bei einer Wassertemperatur von 20°C. Es wurden jeweils 4 Individuen derselben Spezies geprüft.

Die Versuchsergebnisse sind ausschnittsweise in Diagrammen (Abb. 12) wiedergegeben.

Entsprechend der Forderung, daß zur Überprüfung der Motilität nur Versuchsfische mit normalerweise geringer Bewegungsaktivität geeignet sind, wurden für die nachstehenden Tests Panzerwelse ausgewählt.

3.2.6. Versuchsfische und ihre Haltung

Panzerwelse (*Corydoras schulzei*) stammen ursprünglich aus dem Amazonasgebiet. Sie wurden erst 1940 von HOLLY entdeckt (zit. nach NJISSEN, 1970). Es handelt sich um in kleinen Rudeln lebende Schlammbewohner, welche sich von Tubificiden und anderen dort lebenden Wirbellosen ernähren. Die Tiere verhalten sich normalerweise sehr ruhig am Boden, lediglich kleinere Stand-

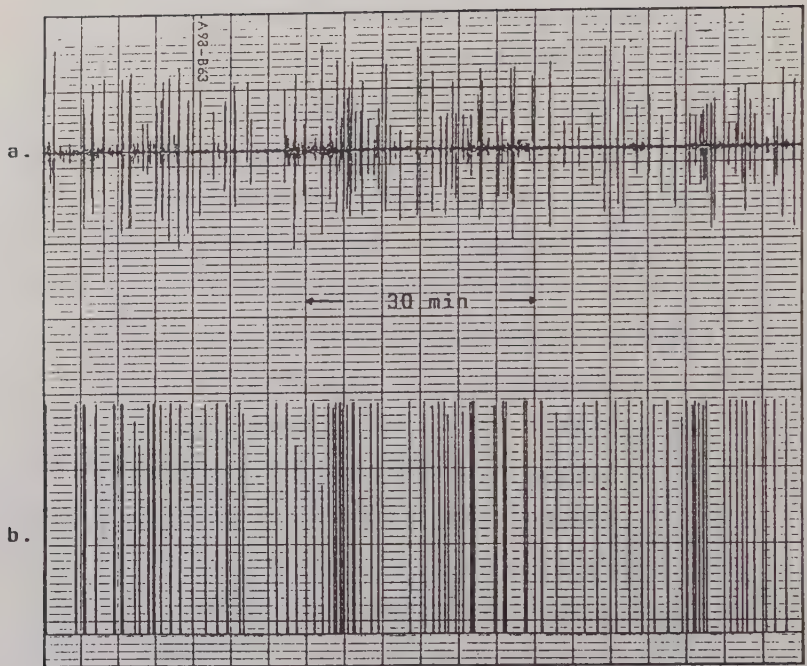


Abbildung 11:

Bewegungsaktivität eines Panzerwelses

a. Aktogramm (analoge Aufzeichnung der Bewegungsgröße)

b. Bewegungshäufigkeit (Zählung der Tierbewegungen)

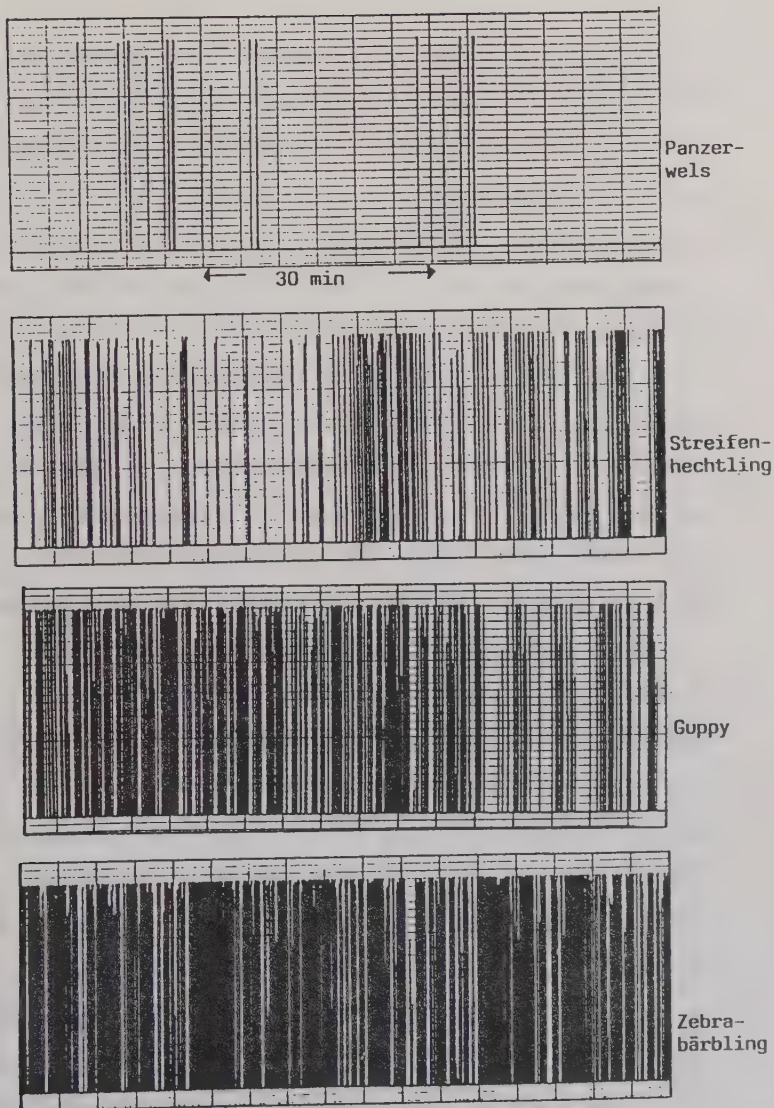


Abbildung 12:

Bewegungsverhalten von vier verschiedenen Zierfischarten
bei gleichen Versuchsbedingungen (Aktogrammausschnitte)

ortkorrekturen werden gelegentlich vorgenommen. Zur Futtersuche bewegen sie sich dagegen schnell grüdelnd am Boden und schwimmen des öfteren, um Luft zu schnappen, zur Wasseroberfläche (Darmatmung).

Das Optimum der Wassertemperatur im Ökosystem dieser Fische liegt zwischen 17° und 28° C, der pH-Wert schwankt zwischen 5,3 und 6,7 (NJISSSEN, 1970).

Für diese Versuche wurden im Zoofachhandel erworbene Nachzuchttiere mit einer Körperlänge von 25 - 35 mm verwendet. Infolge des fehlenden Geschlechtsdimorphismus konnten männliche und weibliche Tiere nicht unterschieden werden. Die Testfische wurden in einem 50 x 30 x 30 cm großen Glasbecken bei einer konstanten Wassertemperatur von 20° C gehältert. Da die Tiere im Schwarm leben, wurden stets 10 - 12 Tiere gemeinsam gehalten. Sie wurden täglich zwischen 8⁰⁰ und 9⁰⁰ Uhr mit einem handelsüblichen Trockenfutter gefüttert. Der Beckenboden war etwa 3 - 5 cm hoch mit feinem Kies bedeckt. Um eine natürliche Umgebung zu imitieren und den Fischen Unterschlupf zu bieten, war das Becken ausreichend bepflanzt. Die Beleuchtung durch eine 30 cm lange, 8 Watt starke Leuchtstoffröhre war täglich zwischen 7³⁰ und 18³⁰ Uhr eingeschaltet. Das Wasser wurde mit einer kleinen Kreiselpumpe ¹⁾ umgewälzt und dabei

1) Kreiselpumpe Turbelle 200; TUNZE

mit Sauerstoff angereichert. In dreitägigem Abstand wurden jeweils 5 Liter des Beckenwassers gegen abgestandenes Frischwasser ausgetauscht.

3.2.7. Festlegung der Versuchstemperatur

Zur Festlegung der Versuchstemperatur wurde durch Messungen am Einzeltier die Bewegungsaktivität von insgesamt 4 Panzerwelsen jeweils bei 18°C, bei 20°C und bei 25°C Wassertemperatur über 24 Stunden registriert. Dazu wurden die Versuchsfische 48 Stunden an die Versuchstemperatur adaptiert, ehe mit der Bewegungsmessung begonnen wurde. Die übrigen Versuchsbedingungen wurden nicht verändert.

Als repräsentatives Ergebnis wurde in Abbildung 13 die Bewegungsaktivität eines Panzerwelses bei den 3 verschiedenen Wassertemperaturen jeweils in einer Treppenkurve dargestellt. Die Abhängigkeit der Bewegungshäufigkeit von der Wassertemperatur ist deutlich zu erkennen. Bei niedrigerer Wassertemperatur ist die Motilität desselben Tieres deutlich geringer als in wärmerem Wasser. Bemerkenswert ist das Beibehalten des zwischen 1⁰⁰ und 2⁰⁰ Uhr auftretenden Motilitätsminimums und des zwischen 8⁰⁰ und 10⁰⁰ Uhr auftretenden Bewegungsmaximums.

Entsprechend den natürlichen Lebensbedingungen der Panzer-

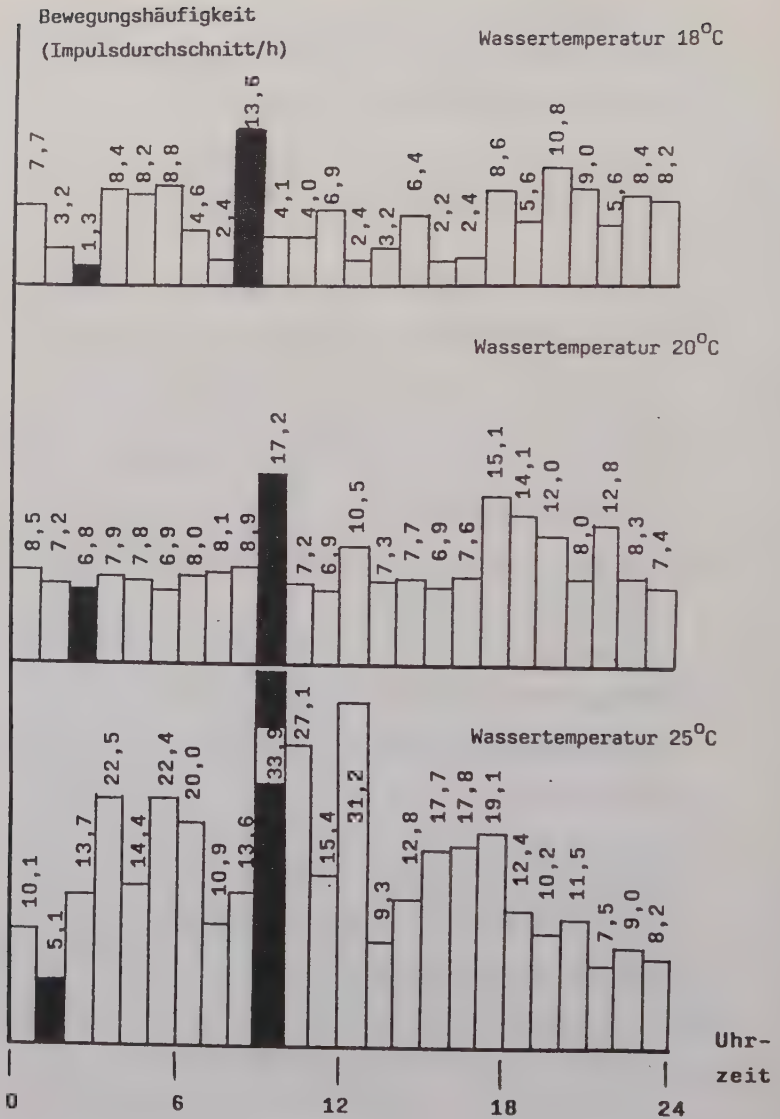


Abbildung 13:

Bewegungsaktivität eines Panzerwelses bei verschiedenen Wassertemperaturen

welse, den internationalen Standardbedingungen und den hier ermittelten Ergebnissen wurde für alle folgenden Tests eine Wassertemperatur von 20°C festgelegt.

3.2.8. Durchführung des Toxizitätstests

Die Brauchbarkeit des beschriebenen Meßverfahrens zur Durchführung von Toxizitätstests wurde am Beispiel zweier derzeit aktueller Schadstoffe geprüft.

Der zum Test anstehende Versuchsfisch wurde zur Eingewöhnung 24 Stunden vor der Testdurchführung in den Tierkäfig eingesetzt, aber noch im Aquarium belassen. Nach Beschicken des Versuchsgefäßes mit 2500 ml Aquarienwasser wurde der Panzerwels in seinem Käfig in das Versuchsgefäß überführt und nochmals 180 Minuten an die Vorrichtung adaptiert.

Zur Erfassung der physiologischen Motilität des Testfisches wurde die Bewegungsmessung bereits 90 Minuten vor der Schadstoffeinleitung begonnen. Die Zugabe der Schadstofflösung erfolgte dann durch die Dosierpumpe mit einer Zulaufgeschwindigkeit von 1 ml/min. Die Schadstoffzufuhr wurde sofort abgebrochen, wenn der im 90 minütigen Vorlauf ermittelte maximale Bewegungswert um mehr als 10 % überschritten wurde. Nach

6 Minuten, in denen der Fisch panikartige Unruhe zeigte, wurde das System 6 Minuten lang mit Frischwasser, d.h. Aquarienwasser geflutet. Die Motilitätsmessung wurde anschließend noch weitere 20 Minuten fortgesetzt. Nach Beendigung des Tests wurde das Tier aus der Meßvorrichtung entnommen, mit frischem Aquarienwasser gespült, dann zur Erholung für einige Zeit in sauerstoffangereichertem Wasser (Becherglas) belassen und schließlich in das Aquarium zurückgebracht.

Jeder Test wurde mit einem unbelasteten Versuchstier durchgeführt. Um den Einfluß tageszeitlicher Schwankungen zu eliminieren, wurden alle Tests von 16⁰⁰ bis 19⁰⁰ Uhr durchgeführt.

Es sei angemerkt, daß das Versuchsgefäß nach jedem Test stets gründlichst gereinigt wurde.

3.2.8.1. TESTS MIT EINEM TENSID

Als Beispiel für ein häufig verwendetes Tensid wurde ein haushaltsübliches Spülmittel (Pril, HENKEL) verwendet. Hauptbestandteil dieses Tensides ist Natriumdodekylsulfat.

Testlösung: 1 ml Pril/ 100 ml Aqua dest.

3.2.8.2. TESTS MIT EINEM INSEKTIZID

Als Beispiel für Pestizide wurde Perfekthion (BASF) verwendet; es handelt sich hierbei um einen Phosphorsäureester mit dem Wirkstoff Dimethoate ¹⁾. Ein Liter Perfekthion enthält 400 g Wirksubstanz.

Testlösung: 1 ml Perfekthion/ 100 ml Aqua dest.

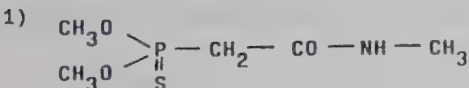
3.3. Durchführung von Motilitätstests mit Tubificiden

Als alternative Testorganismen zum Versuchsfisch wurden Schlammröhrenwürmer (*Tubifex tubifex* Müller) auf ihre Eignung zur Durchführung des Motilitätstests geprüft.

3.3.1. Testorganismen und deren Haltung

Die im Süßwasser lebenden Schlammröhrenwürmer gehören zu der Familie der Oligochaeta und sind als Fischfutter jederzeit, aus kalten Flüssen und Seen geerntet, in gleichbleibender Qualität erhältlich.

LIEBMANN (1962) sowie BRINKHURST (1963) beschreiben ausführlich Morphologie und Physiologie dieser Würmer.



O,O DIMETHYL-S (2 OXO - 3 AZA) BUTYL-DITHIOPHOSPHAT

(aus PERKOW, 1983/85 und Produktbeschreibung BASF 1986, S. 127-128)

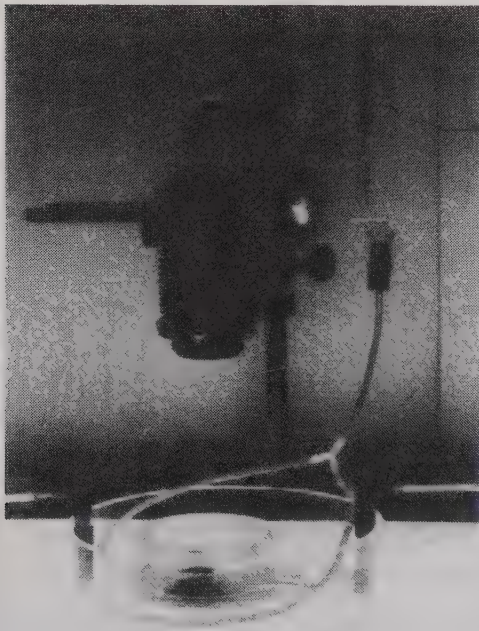
Es handelt sich um 3 - 4 cm lange, blutrot gefärbte Tiere mit segmentiertem Körperbau. Natürlicherweise kommen sie im Schlamm fließender Gewässer vor. Das Vorderende der Tiere steckt in einer Schlammröhre, die aus Schlammteilchen vermischt mit einer schleimähnlichen Substanz besteht. Verschiedene organische Bestandteile dienen den Tubificiden als Nahrungsgrundlage. Der Hinterabschnitt des Wurmes ragt mit schlängelnden Bewegungen aus der Röhre heraus. Diese Körperbewegungen dienen dazu, sauerstoffreiches Wasser aus oberen Schichten in die Nähe der Schlammschicht zu strudeln. Die Länge des herausragenden Hinterleibsabschnittes ist proportional zu der Menge des im Wasser gelösten Sauerstoffes. Die Tiere sind in der Lage bis zu 600 Stunden anaerob durch Darmatmung zu überleben. Auf pH-Wert-Änderungen reagieren die Schlammröhrenwürmer kaum. Für die Entwicklung und Haltung ist fließendes, kaltes Wasser notwendig.

Die für die Untersuchungen im Zoofachhandel in kleinen Portionen erworbenen Tubificiden wurden in einem 500 ml Becherglas unter ständig zutropfendem frischem Leitungswasser bei 14⁰ C gehältert. Eventuell abgestorbene (leichtere) Individuen wurden stets durch mehrmaliges Aufschwemmen und Dekantieren von den lebenden (schwereren) Würmern getrennt. Die Tiere wurden bei

der Hälterung nicht gefüttert.

3.3.2. Aufbau und Funktionsweise des Versuchsgefäßes

Zur Durchführung des Motilitätstests mit Tubificiden wurde das in den Abbildungen 14 und 15 dargestellte Versuchsgefäß entwickelt.



optisch - opto-
elektronischer
Meßwertaufnehmer
(OOM)

Versuchsge-
fäß

Abbildung 14:

Versuchsanordnung zur optisch - optoelektronischen Registrierung der Motilität von Tubificiden.

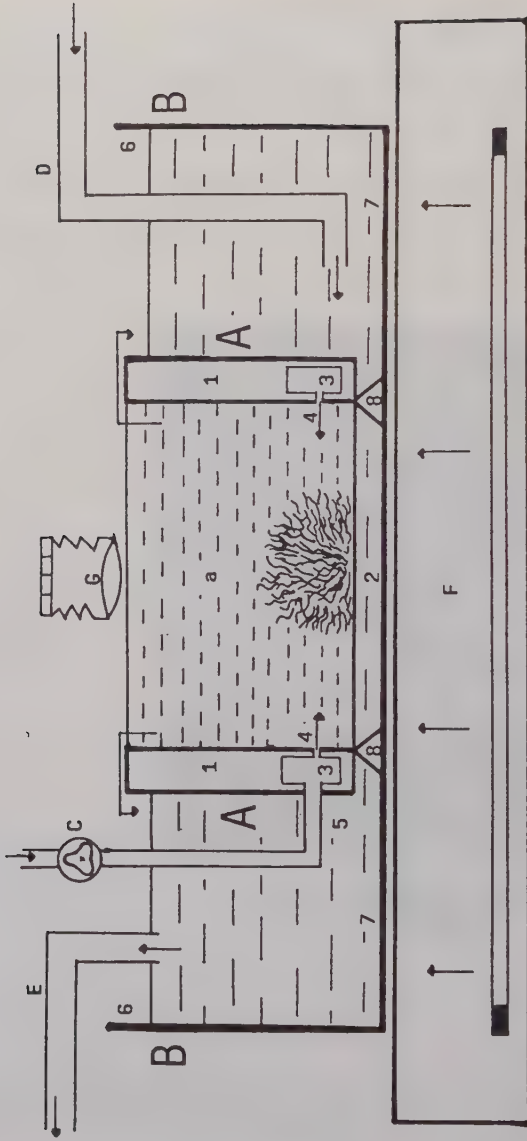


Abbildung 15:

Schematischer Aufbau und Funktionsweise des Tubificidenversuchsgefäßes

Das Versuchsgefäß (Abb. 15) ist aus durchsichtigem Plexiglas gefertigt und besteht aus dem Tierbehälter A und dem Temperiergefäß B.

Die Wandung des Tierbehälters A ist aus zwei 50 mm hohen Plexiglasröhren (80/72 und 90/80 mm) 1 aufgebaut, die konzentrisch ineinander stehend, nach oben hin abgedichtet, auf einer 2 mm dünnen Bodenplatte 2 aufgeklebt sind. Die innere Plexiglasröhre ist an der Außenseite 3 mm oberhalb des unteren Randes mit einer 2 mm tiefen und 5 mm breiten Nut versehen, so daß zwischen beiden Plexiglasröhren ein Ringkanal 3 entsteht. Von diesem Ringkanal 3 führen 26 gleichmäßig verteilte 0,1 mm - Bohrungen 4 in den Meßraum a des Versuchsgefäßes. Zur Einleitung und Verteilung der Schadstofflösung münden in den Ringkanal von außen zwei sich genau gegenüberliegende Zulaufstutzen (5/3 mm) 5 ¹⁾. Diese sind durch sehr kurze Silikonschläuche über ein Y - Verbindungsstück an die Dosierpumpe C angeschlossen. Überschreitet das Wasser im Meßraum a die Aufnahmekapazität des Tierbehälters A, fließt das Wasser gleichmäßig über den oberen Rand der Behälterwand 1 in das Temperiergefäß B ab.

1) In Abb. 15 ist zur Vereinfachung nur eine Zuführung eingezeichnet.

Das Temperiergefäß B dient zur Konstanthaltung der Wassertemperatur im Tierbehälter A. Es ist 50 mm hoch, hat einen Durchmesser von 200 mm und ist aus einem entsprechenden Plexiglasring 6 und einer Plexiglasscheibe 7 zusammengeklebt. Damit der Tierbehälter A allseitig von Temperierwasser umspült wird, sind am Boden des Temperierbades zwei 5 mm hohe Plexiglasschienen 8 befestigt. Zur Einhaltung einer Versuchstemperatur von 14°C wird in das Temperiergefäß B ständig kaltes Leitungswasser über den Zulaufstutzen D zugeführt. Das Kühlwasser wird zusammen mit der übergelaufenen Schadstofflösung kontinuierlich an der gegenüberliegenden Seite des Temperiergefäßes B über den Ablaufstutzen E mittels einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Zur gleichmäßigen Ausleuchtung des Meßraumes a steht das beschriebene Versuchsgefäß auf einem waagrecht liegenden Röntgenbetrachtungsschirm F ¹⁾.

Die optisch-optoelektronische Meßvorrichtung (OOM) G wird genau in der optischen Achse über dem Tierbehälter A in entsprechender Gegenstandsweite installiert.

1) Leuchtpult 40 x 50 cm; REX

3.3.3. Verteilung der Schadstofflösung im Tierbehälter

Die Überprüfung der homogenen Verteilung einer Schadstofflösung im Meßraum des Tierbehälters erfolgte mittels einer 0,1%-igen wässrigen Methylenblaulösung. Dazu wurden jeweils 8 ml ($>$ Totvolumen = 6,84 ml) dieser Lösung mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten eingeleitet. Das beste Ergebnis wurde bei einer Zulaufgeschwindigkeit von 1 ml/min erreicht.

Die photographische Aufnahme in Abbildung 16 dokumentiert einerseits die gleichmäßige Verteilung des Methylenblaus im Meßraum sowie andererseits in dessen Zen-

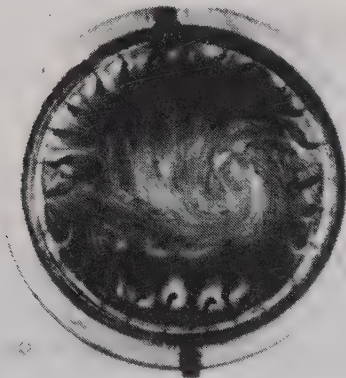


Abbildung 16:

Verteilung einer Schadstofflösung im Meßraum

trum einen strömungsschwachen Bereich, in welchem die Tubificiden nicht durch die Wasserströmung verwirbelt werden und damit ihre charakteristische Knäueelform beibehalten.

3.3.4. Registrierung und Auswertung der Meßergebnisse

Bei den nachstehenden Versuchen wurde die Bewegungsaktivität der Tubificiden in analoger Form als Aktogramm graphisch dargestellt. Zur numerischen Auswertung der Meßdaten wurde die quantifizierte Messung der Tierbewegung eingesetzt (vgl. Seite 43). Die auf dem Zähler aufsummierten Meßimpulse wurden in minütlichem Abstand ausgedruckt.

Um im Test die durch die Schadstoffzugabe bedingte Motilitätszunahme zuverlässig erkennen zu können, wurde wie folgt verfahren:

Für die in der 60 Minuten andauernden Vorperiode des Tests minütlich registrierten Meßwerte (= "normale" Motilität) wurden Mittelwert und Streuung berechnet. Es wurde dann für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % ($p < 0,01$) und die entsprechenden Freiheitsgrade der betreffende t - Wert einer statistischen Tabelle entnommen. Aus diesen Parametern wurde dann der Prüfwert x_{n+1} nach folgender Formel errechnet:

$$x_{n+1} = \left| \bar{x} - t \cdot s_{\bar{x}} \sqrt{n+1} \right|$$

t = t - Wert

n+1 = Anzahl aller Meßwerte

x_{n+1} = Prüfwert

$\bar{x}$ = Mittelwert

$s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes

(nach MAUSER, 1961)

Wurde dieser Prüfwert im Test nach der Schadstoffzugabe von einem Meßwert überschritten, war die Erhöhung der Motilität gegenüber der Norm statistisch gesichert angezeigt.

3.3.5. Versuchsdurchführung

Zunächst wurde mittels einer Bürette der Tierbehälter mit 100 ml kaltem Leitungswasser (14°C) gefüllt und dabei die Luft aus Schläuchen und Ringkanal völlig verdrängt (empirisch festgelegte Füllmenge). Danach wurden die Schläuche ohne Lufteintritt an die Dosierpumpe angeschlossen und zur Einhaltung der Temperatur im Tiergefäß (14°C) der Wasserdurchfluß im Temperiergefäß einreguliert. Eine Tubifex-Masse von 2,0 $\pm$ 0,1 g Feuchtgewicht ¹⁾ wurde dann in den Tierbehälter einge-

1) Die Tubificiden wurden auf Filterpapier weitgehend entwässert und anschließend ihre Masse auf einer Analysenwaage bestimmt.

bracht. Nach etwa 30 Minuten hatten sich die Tubificiden zu einem kugelförmigen Knäuel formiert. Nunmehr wurde ihre Motilität über 60 Minuten gemessen. Nach dieser Vorperiode erfolgte die Einleitung der temperierten Schadstofflösung (14°C) mit einer Geschwindigkeit von 1 ml/ min.

Überschritt der registrierte Meßwert den errechneten Prüfwert (s.Seite 69), wurde die Schadstoffzufuhr sofort gestoppt. Die Würmer blieben 10 Minuten lang der Schadstofflösung ausgesetzt, bevor sie mit frischem Leitungswasser (14°C) weitere 10 Minuten lang gespült wurden. In einer 20 - minütigen Nachperiode wurde das weitere Bewegungsverhalten der Tubificiden kontrolliert.

3.3.6. Durchführung von Toxizitätstests

Es wurden 4 verschiedene, derzeit aktuelle Schadstoffe geprüft.

3.3.6.1. TESTS MIT EINEM HAUSHALTSÜBLICHEN SPÜLMITTEL

Hierfür wurde Pril (HENKEL) verwendet (vgl. Seite 60).
Testlösung: 1 ml Pril/ 100 ml Aqua dest.

3.3.6.2. TESTS MIT SDS (= SODIUMDODEKYL SULFAT)

Bei der Testsubstanz Natriumdodekylsulfat ¹⁾ handelt es sich um ein anionisches Tensid. Es bildet die Wirksubstanz der meisten großtechnisch gefertigten Wasch- und Spülmittel. Zur Herstellung der Testlösung wurde eine industriell gefertigte 10%-ige Lösung des Tensides verwendet:

Testlösung: 1 ml der 10%-igen Tensidlösung/ 100 ml Aqua dest.

3.3.6.3. TESTS MIT EINEM INSEKTIZID

Das verwendete Perfekthion wurde auf Seite 61 bereits näher beschrieben:

Testlösung: 0,7 ml Perfekthion/ 100 ml Aqua dest.

3.3.6.4. TESTS MIT EINEM HERBIZID

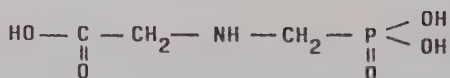
Die geprüfte Substanz Roundup wird in Landwirtschaft, Forst und Weinbau häufig verwendet. Es handelt sich

1) $R - SO_4 - Na$ (R = 12 C)
(Sodiumdodekylsulfat)

um das Isopropylaminsalz des Glyphosate ¹⁾. In Roundup sind 360 g/kg des Wirkstoffes enthalten. Folgende Testlösung wurde verwendet:

Testlösung: 0,1 ml Roundup/ 100 ml Aqua dest.

1)



(aus Perkow, 1983/85 und BASF Produktinformation 1986, 159-168)

4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

4.1. Bewertung des Motilitätstests als Frühwarnsystem

Der Motilitätstest zur Überwachung von Gewässerqualität und -gefährdung durch auftretende giftige Substanzen anthropogener Provenienz ist eine Alternative zum Schwächungs- und Letalitätstest. Bekanntlich wird das Wohlbefinden von Fischen durch Veränderung der Wasserqualität beeinträchtigt. Die Tiere zeigen dies durch Änderung ihres Bewegungsverhaltens an. Zunächst sind körperliche Unruhe, dann zusätzlich erhöhte Atemfrequenz und schließlich panikartige Fluchtreaktion zu beobachten. Folglich kann bei Testfischen, die als unspezifische Indikatoren für das Auftreten von Giftstoffen im Wasser fungieren, die Veränderung ihrer Bewegungsaktivität als Testkriterium zum Schadstoffnachweis genutzt werden. Dieser Motilitätstest ist als Frühwarnsystem dem Schwächungstest, vor allem aber dem Letalitätstest weit Überlegen, da im Wasser auftretende Schadstoffe die Störung des Wohlbefindens zeitlich deutlich vor einer Schwächung oder gar dem Tod bewirken.

Gegenwärtig ist in der BR Deutschland zur Gewässerkontrolle der standardisierte Golddorffentest vorgeschrieben,

bei dem die Letalität der Fische das Testkriterium darstellt. Nach dem neuen Tierschutzgesetz (1987) müssen diese Letalitätstests, soweit möglich, durch neue, für Versuchstiere ungefährliche Testmethoden ersetzt werden. Hierfür bietet sich der Motilitätstest an, da dabei durch Messung der im Vergiftungsschema früh einsetzenden Fluchtreaktion (Seite 21) die Versuchsfische durch die Schadstoffeinwirkung nicht geschädigt werden. In einem abgeschlossenen Behälter (Testbecken) führt diese Fluchtreaktion zu einer panikartigen Unruhe der Testfische, die gegenüber ihrer "normalen" Motilität in schadstofffreiem Wasser deutlich registrierbar ist. Ist die Bewegungsänderung als Testkriterium festgehalten, kann eine Schädigung der Fische vermieden werden, indem die Schadstoffeinwirkung auf die Tiere in geeigneter Weise unterbunden wird (z.B. durch Fluten des Testbeckens mit Frischwasser).

Die Brauchbarkeit des Motilitätstests als Frühwarnsystem für die biologische Gewässerkontrolle wurde von PETRY (1982), EICHELBERGER (1982) und MÜLLER (1984) an Forellen mit verschiedenen Schadstoffen in Labor- und Freilandtests nachgewiesen.

Voraussetzung zur Durchführung des Motilitätstests

ist ein Verfahren zur zuverlässigen meßtechnischen Aufzeichnung von Körperbewegungen bei Versuchstieren. Dieses Problem ist aber bis heute apparativ und methodisch noch unvollständig gelöst. PETRY, EICHELBERGER und MÜLLER benutzten dazu das Prinzip der Magnetinduktion (Seite 30). Nachteil dieses einfachen, empfindlichen und zuverlässigen Verfahrens ist jedoch die notwendige Markierung der Testfische mit einem Dauermagneten. Da diese bei Forellen (300 - 500 g) aufgrund der Körpergröße nicht äußerlich verläßlich fixiert werden konnten, wurden sie in die Leibeshöhle implantiert. Diese Implantation bedeutet einerseits für das Tier einen größeren Eingriff mit einer längeren Rekonvaleszenzphase, die andererseits für den Experimentator eine entsprechende Wartezeit bedingt. Weiterhin setzt diese Methode eine bestimmte Mindestgröße der Versuchsfische voraus (Relation zwischen Tiergröße, Magnetgröße und magnetischer Feldstärke), woraus wiederum ein relativ großes Volumen der auf Schadstoffe zu untersuchenden Wasserprobe resultiert.

4.2. Vorteile des optisch - optoelektronischen Motilitätsmeßverfahrens

Die genannten Nachteile der Bewegungsmessung mit Hilfe

magnetinduzierter Spannungen entfallen bei dem hier eingesetzten optisch - optoelektronischem Meßverfahren (Seite 38). Diese Methode kann nämlich ohne vorherige Manipulation sofort bei jedem beliebigen Versuchstier angewendet werden. Eine Limitierung der Fischgröße ist theoretisch weder nach unten noch nach oben gegeben. Es läßt sich somit auch die Bewegungsaktivität von sehr kleinen Zierfischen oder sogar im Wasser lebenden Wirbellosen zuverlässig erfassen. Unter Verwendung dieser Versuchstierspezies wird der Motilitätstest auch in sehr kleinen Wasserproben durchführbar.

In den hier durchgeführten Untersuchungen konnte mit Hilfe des optisch - optoelektronischen Meßverfahrens die Bewegungsaktivität von Panzerwelsen, Streifenhechtlingen, Guppys, Zebrafärbungen sowie von Tubificiden mit großer Genauigkeit festgehalten werden. Zum einen wird durch die Verwendung der Wheatstone'schen Brücke in der elektrischen Verschaltung des Meßwertaufnehmers eine hohe Meßempfindlichkeit erreicht, zum anderen können selbst diese sehr kleinen Versuchstiere durch entsprechend gewählten Abbildungsmaßstab noch ausreichend groß auf die lichtempfindliche Sensorplatte des Meßwertaufnehmers abgebildet werden, so daß jede Körperbewegung der Tiere quantitativ registriert

wird. Eine Beeinflussung der Versuchstiere durch das Meßsystem ist nicht gegeben.

Die Schwäche des optisch-optoelektronischen Meßverfahrens liegt darin, daß räumliche Lokomotionen, wie sie bei Wassertieren auftreten, nicht in vollem Ausmaß, sondern teilweise nur vektoriell, auf eine Ebene projiziert, meßbar sind. Dies spielt jedoch für die hier angestellten Untersuchungen an Panzerwelsen und Tubificiden nur eine untergeordnete Rolle. Diese Tiere sind überwiegend bodenbewohnend, so daß zur Registrierung ihrer Motilität eine zweidimensionale Messung mit nur einem Meßwertaufnehmer völlig ausreichend ist.

4.3. Untersuchungen mit Panzerwelsen

Zur Durchführung des Motilitätstests mit kleinen Zierfischen (max. 3 - 4 cm) mußte ein Versuchsgefäß gemäß folgender Forderungen entwickelt werden:

1. optimales Volumenverhältnis von Meß- und Totraum;
2. schnelle und homogene Vermischung der zugegebenen Schadstofflösung im Meßraum;
3. konstante Versuchsbedingungen durch gleichmäßige Beleuchtung und Wassertemperatur zur Ausschaltung der Einwirkung äußerer Faktoren auf den Testfisch;

4. Elimination störenden Streulichtes auf den optischen Vorgang der Motilitätsmessung.

Die für eine schnelle Verteilung der zugegebenen Schadstofflösung (bei 2500 ml Gesamtvolumen) notwendige Wasserströmung erzeugt eine kräftige Umwälzpumpe. Dadurch auftretende intensive Wirbelbildungen an der Gitterwandung des Tierkäfiges (Meßraum) führen zu einer homogenen Verteilung der eingeleiteten Substanzen im Inneren des Meßraumes. Die mittlere Durchmischungszeit wurde dort mit 20,6 Sekunden bestimmt.

Eine gleichmäßige Ausleuchtung des Meßraumes ist durch die Verwendung einer Leuchtstoffringröhre gewährleistet. Durch Aufstellen des Versuchsgefäßes in einem Wasserbad wird die Versuchstemperatur in der gesamten Anordnung konstant gehalten (20°C).

Zur Vermeidung von Artefakten bei der Bewegungsmessung dient der Aufsatz B des Versuchsgefäßes. Dieser zwischen Linse des Meßwertaufnehmers und Wasseroberfläche des Versuchsgefäßes befindliche Tubus schützt einerseits durch seine äußere Schwarzfärbung den Meßvorgang gegen einfallendes Streulicht. Andererseits taucht er mit seiner wasserdichten, transparenten Unterseite etwa 1 cm unter die Wasseroberfläche des Versuchsgefäßes, so daß Meßfehler durch Lichtreflexionen an Oberflächenwellen verhindert werden. Darüber hinaus

erlaubt der Aufsatz eine exakte und unveränderliche Fixierung des Meßwertaufnehmers in festgelegter Gegenstandsweite und optischer Achse.

Die Zielgröße des Motilitätstests ist die Änderung der Bewegungsaktivität der Testfische bei Auftreten von toxischen Substanzen im Wasser. Diese Änderung ist verständlicherweise am deutlichsten bei solchen Fischarten zu registrieren, deren Bewegungsaktivität "normalerweise" gering ist. Das Bewegungsverhalten hängt bekanntlich unter anderem auch von der Ernährungsweise der Tiere ab. Räuberisch lebende Arten, die Nahrung mit hoher Energiedichte in längeren Zeitabständen aufnehmen, sind verständlicherweise weniger bewegungsaktiv als pflanzenfressende Beutetiere. Vor diesem Hintergrund benutzten PETRY (1977 a), EICHELBERGER (1982) und MÜLLER (1984) Forellen als geeignete Versuchsfische für den Motilitätstest. In Anlehnung hieran wurden für die hier durchgeführten Untersuchungen zunächst Streifenhechtlinge als mögliche Testfische geprüft. Diese leben räuberisch und lauern unter der Wasseroberfläche, ruhig stehend, auf vorbeifliegende Insekten. Unter Versuchsbedingungen erweisen sich diese Fische jedoch als relativ bewegungsaktiv (Abb. 12). Sie waren aber weitaus ruhiger als

Zebrabärblinge oder Guppys. Das Bewegungsverhalten dieser beiden bekanntlich schwimmaktiven Fischarten wurde hier vor dem Hintergrund untersucht, daß diese verschiedentlich als Versuchsfische bei Letalitäts- und Schwächungstests zur Überprüfung fischtoxischer Substanzen Verwendung fanden.

Aufgrund ihrer Lebensweise und ihres Bewegungsverhaltens erschienen Panzerwelse zur Durchführung von Motilitätstests geeignet (Seite 55). Die meßtechnische Registrierung ihrer Motilität bestätigte dann auch die physiologischerweise sehr geringe Bewegungsaktivität (Abb. 12). Die Brauchbarkeit des optisch - optoelektronischen Motilitätsmeßverfahrens wurde deshalb mit Panzerwelsen als Testfische überprüft.

Die im Zoofachhandel erworbenen Versuchsfische wurden erst nach zweimonatiger Vorhälterungszeit bei den Tests eingesetzt, um etwaige Vorschädigungen oder latent vorhandene Krankheiten auszuschließen. Jeder Fisch wurde nur einmal im Test verwendet, da einerseits eine Adaption an den Schadstoff beziehungsweise andererseits eine Schädigung durch diesen nicht ausgeschlossen werden konnte. Gegen das letztere spricht, daß bei jeweils 4, im Anschluß an die beiden Testreihen getöteten und sezierten Panzerwelsen keinerlei pathologische Veränderungen an Organen oder Organsystemen fest-

gestellt werden konnten ¹⁾.

Um die Brauchbarkeit des Motilitätstests zu prüfen, wurde die eine deutliche Steigerung der Bewegungsaktivität hervorrufende Reaktionskonzentration für zwei aktuelle, in Gewässern auftretende Schadstoffe mehrmals ermittelt. Die Ergebnisse der meßtechnischen Registrierung der Bewegungsaktivität der Testfische stimmten stets mit den visuellen Beobachtungen überein: Zunächst konnte ein allmähliches Ansteigen der Atemfrequenz anhand der Anzahl der Kiemenbewegungen festgestellt werden. Nach ca. 30 Sekunden zeigten die Testfische dann ruckartige, unkontrolliert erscheinende Schwimmbewegungen. Die Aktivitätsphasen dauerten jeweils etwa 5 - 10 Sekunden; die Dauer der dazwischen liegenden Ruhepausen betrug etwa 10 - 20 Sekunden. In diesem Stadium wurden die im Vorlauf ermittelten maximalen Motilitätswerte (Digitalwerte) bereits um mehr als 10 % überschritten, und es wurde deshalb die Schadstoffzufuhr abgebrochen. Schließlich bewegten sich die Tiere mit panikartiger Unruhe. Sie schwammen dabei in deutlich veränderter Lage im 45 - 90° Winkel, z.T. kopfüber, in wilder Flucht an

¹⁾ Die pathologischen Untersuchungen wurden im Institut für Zoologie, Tiermedizinische Fakultät München durchgeführt.

der Wasseroberfläche. Zwischendurch traten mehrmals kürzere Ruhepausen von 5 - 10 Sekunden Dauer auf. Nach der Frischwasserflutung des Versuchsgefäßes reduzierte sich die Bewegungsaktivität der Testfische bemerkenswert schnell, ihre Atemfrequenz nahm jedoch nur zögernd wieder ab.

Nach dem Rücksetzen der Fische in das Hälterungsbekken wirkten diese deutlich körperlich ermüdet. Nach etwa 10 Minuten waren jedoch keine Abweichungen gegenüber ihrem "Normalverhalten" mehr zu erkennen.

4.3.1. Testergebnisse mit einem Spülmittel (Pril)

Abbildung 17 zeigt als repräsentatives Aktogramm (Versuchs-Nr. 5) die Veränderung der Bewegungsaktivität eines Panzerwelses durch Einwirkung des Spülmittels Pril. Im Vorlauf (a - b) wurden für die "normale" Bewegungsaktivität des Testfisches im Durchschnitt 1,3 Meßimpulse/min registriert (vgl. auch Tab. 1). Der Maximalwert lag bei 19 Meßimpulsen/min. Nach Zugabe der Schadstofflösung (b - c) erhöhte sich dann die Bewegungsaktivität des Tieres auf 45 Meßimpulse/min, d.h., der Reaktionswert betrug das 2,4-fache des Maximalwertes im Vorlauf. Diese 6 Minuten andauernde, stark erhöhte Motilität des Testfisches ist in der

Abbildung (c - d) deutlich erkennbar.

Tabelle 1 gibt die Ergebnisse von 10 Tests mit dem Spülmittel Pril numerisch wieder. Daraus ist zunächst durch die zwischen 0,2 - 2,4 Meßimpulsen/min variierenden Durchschnittswerte für den Vorlauf zu entnehmen, daß die "Normalmotilität" der Panzerwelse individuell verschieden ist. Dies zeigen auch die im Vorlauf registrierten Maximalwerte, die zwischen 4 - 19 Meßimpulsen/min schwankten. Die Reaktionswerte erreichten das 1,4 - 3,8-fache des jeweiligen Maximalwertes. Die für das Spülmittel berechneten Reaktionskonzentrationen bewegten sich im Bereich von 25,8 - 33,5 ppm. Der Durchschnittswert für diesen Schadstoff ergab sich zu $28,5 \pm 3,7$ ppm.

Die gute Reproduzierbarkeit (Variabilität ± 13 %) dieser Resultate zeigt einerseits die prinzipielle Brauchbarkeit des optisch-optoelektronischen Motilitätstests mit Panzerwelsen für die Gewässerkontrolle und andererseits die Einsatzmöglichkeit dieses Verfahrens zur Feststellung von im Wasser auftretenden Tensiden. Für eine befriedigende Wertung der hier gewonnenen Ergebnisse fehlen in der Literatur geeignete Angaben über Panzerwelse. Läßt man jedoch speziesbedingte Unterschiede außer acht, so können folgende Vergleiche

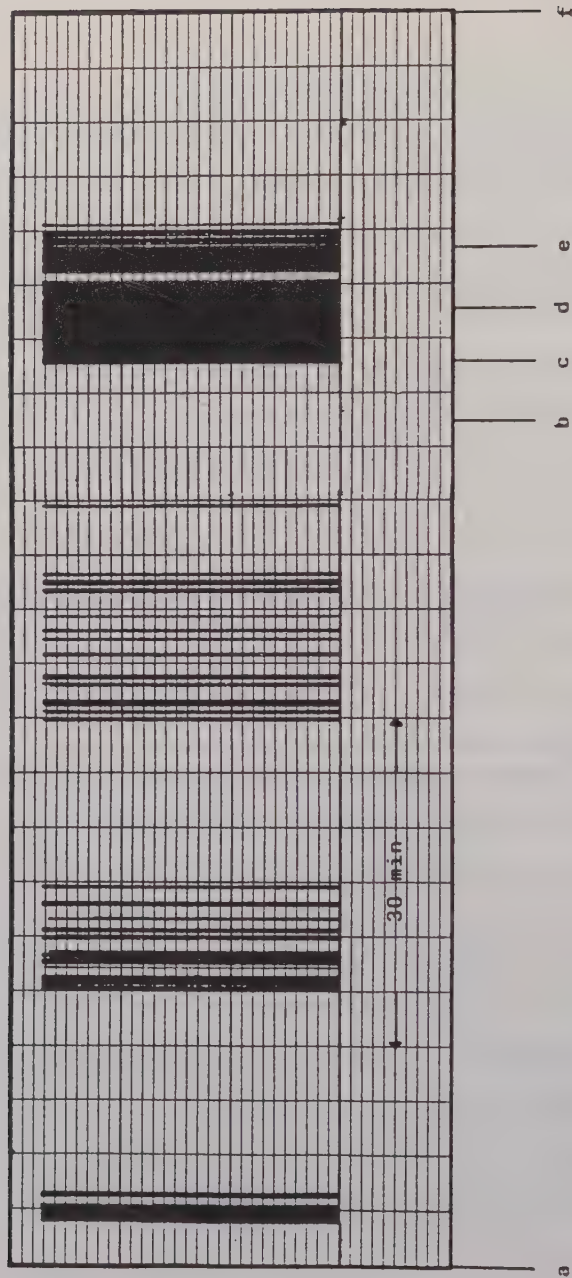


Abbildung 17

Motilitätsänderung eines Panzerwelses bei Zugabe eines haushaltsüblichen Spülmittels (Pril)

a - b = Vorlauf ("normale Bewegungsaktivität"); **b - c** = Schadstoffeinleitung; **c** = Bestimmung von Reaktionswert (Bewegungsaktivität) und Reaktionskonzentration (Schadstoff); **d - e** = Frischwasserflutung; **e - f** = Nachlauf.

Tabelle 1

Motilitätsänderungen von Panzerwelsen und Reaktionskonzentrationen bei Zugabe eines haushaltsüblichen Spülmittels (Pril)

Test-Nr.	Bewegungsaktivität [Meßimpulse/min]			Reaktions- konzentration [ppm]
	Vorlauf		Reaktionswert	
	Durchschnitt	Maximum		
1	0,2	4	9	25,8
2	1,0	9	17	25,8
3	2,3	15	23	25,8
4	1,6	11	18	33,5
5	1,3	19	45	25,8
6	0,6	7	25	25,8
7	0,3	5	7	33,5
8	0,5	9	12	33,5
9	2,4	13	34	25,8
10	1,0	9	17	29,6

angestellt werden:

MANN (1965) ermittelte in Letalitätstests mit Goldorfen für ein haushaltsübliches Spülmittel (?) die LC 50/48 h zu 5 - 15 ppm. Dieser niedrigere Wert erklärt sich dadurch, daß er in Langzeittests (48 h) erhalten wurde.

Numerische Übereinstimmung besteht mit den von PETRY (1975, 1976) in Motilitätstests mit magnetmarkierten Forellen für das hier verwendete Spülmittel bestimmten Reaktionskonzentrationen von 20 - 80 ppm, die jedoch später in gleichen Tests EICHELBERGER (1982) und MÜLLER (1984) zu durchschnittlich 9 bzw. 12 ppm ermittelten. Die Diskrepanz dieser Angaben sowie die Abweichung der eigenen Testergebnisse hierzu resultieren - abgesehen von oben erwähnten speziesbedingten Unterschieden - aus einer möglichen, jedoch nicht nachweisbaren, unterschiedlichen Zusammensetzung des verwendeten Spülmittels durch den Hersteller.

Bekanntlich werden Wasch- und Spülmittel weiterhin in zunehmendem Maße unbedacht von privaten Haushalten und Industriebetrieben eingesetzt. Tenside, bisher nicht in Giftklassen eingeteilt, gelten anscheinend als nicht toxisch. Bis heute gibt es keine gesetzlichen Maßnahmen gegen die Tensidverschmutzung der Gewässer. Wie auf Sei-

te 10 ausgeführt wurde, beläuft sich theoretisch die durchschnittliche Tensidkonzentration im Abwasser bereits auf etwa 50 ppm. Die Nachweisgrenze des hier mit Panzerwelsen erprobten Motilitätstests (28,5 ppm) liegt weit unter diesem Wert, so daß mit diesem Testverfahren eine Verbesserung der Gesamtsituation bezüglich der Tensidbelastung der Gewässer erreicht werden kann.

Gelangen größere Mengen von Tensiden in Gewässer, ist ein Fischsterben nahezu unausweichlich. Diese oberflächenaktiven Substanzen sind für Fauna und Flora des Wassers zumeist hochtoxisch. Hinzu kommt eine zusätzliche Belastung der Gewässer durch die ebenfalls in Waschmitteln enthaltenen Phosphate, welche ein starkes Algenwachstum mit übermäßiger sauerstoffzehrender Wirkung induzieren.

Die Schädigung der Fische durch Tenside äußert sich nach SCHÄPERCLAUS (1979) aufgrund seiner Beobachtungen an Forellensetzlingen unter Einwirkung von anionischen und nicht ionischen Tensiden wie folgt: Bei Kurzzeittests tritt im 1. Stadium der Vergiftung eine vermutlich stressbedingte, starke Erregung auf, die sich jedoch schnell wieder legt. Später treten dann Gleichgewichtsstörungen auf; die Fische schwimmen in Rückenlage oder auf der Seite. Bei längerem Einwirken der Schadstoffe kommt es zu einem Ablösen des Schleimüberzuges

der Haut.

Pathologisch - anatomisch werden zunächst Kiemenepithelschädigungen beobachtet. Nachfolgend treten Blutungen in den Schleimhäuten von Kiemen und Schwimmblase auf. Letzteres sowie die Schädigung des Seitenlinienorganes bedingen dann Gleichgewichtsstörungen. Durch weitergehende Tensidwirkungen werden insbesondere die schleimabsondernden Becherzellen sowie die Epithelzellen der Haut membrangeschädigt und lysiert. An anderen Körperstellen werden Hämatombildungen mit hämolysierten Erythrozyten beobachtet. Diese Hämolys tritt ein, da die Zellmembranen durch die lipidlösenden Eigenschaften der Tenside ihre Stabilität und Selektivität verlieren, so daß das osmotische Gleichgewicht in verschiedenen Körperzellen nicht mehr aufrecht erhalten werden kann. Durch die Zerstörung der roten Blutkörperchen kommt es anschließend zu einer Beeinträchtigung des Gasaustausches. Neben diesen O_2 - und CO_2 - Imbalancen werden auch der Wasser- und Salzhauhalt sowie der N - Stoffwechsel gestört. Wenn auch die LC 100 in Oberflächengewässern nicht auftritt, so sind die Tiere doch aufgrund der Schädigung ihrer Haut- bzw. Schleimhautbarriere hochempfindlich gegenüber viral oder parasitär bedingten Erkrankungen.

Die Tensidempfindlichkeit der einzelnen Fischarten unterliegt z.T. erheblichen Schwankungen (KNAUF, 1973). So scheint die Sensitivität gegenüber Tensiden vom Karpfen über Guppys und Goldorfen zu Forellen hin anzusteigen. Höhere Wassertemperaturen und Abnahme des gelösten Sauerstoffes führen allgemein zu einer Toxizitätszunahme und somit zu einer Senkung von Manifestationszeitpunkt und -konzentration der Vergiftungssymptome (MANN, 1965).

Spermien und Fischeier sind hochempfindlich gegenüber oberflächenaktiven Substanzen. Da bei Fischen eine äußere Befruchtung stattfindet, hat diese Tatsache gravierende Folgen. Es kommt zu einer erheblichen Verschlechterung der Fruchtbarkeitslage in belastetem Wasser (SCHÄPERCLAUS, 1979).

Anzumerken ist, daß für landlebende Tiere und Menschen Tenside bei peroraler Aufnahme nahezu ungiftig sind. Selbst Fische können beispielsweise bis zu 800 mg/l Alkylbenzolsulfonat (anionisches Tensid) im Magen-Darmtrakt ohne nachweisbare Schäden verkraften (MANN, 1965).

4.3.2. Testergebnisse mit einem Insektizid (Perfekthion)

Abbildung 18 zeigt das Bewegungsverhalten eines Panzerwelses bei Einwirkung von Perfekthion. Dieses repräsentative Aktogramm (Versuchs-Nr. 12) gibt zu erkennen, daß die Testfische auf das Insektizid in gleicher Weise wie auf Pril durch eine gut meßbare Zunahme der Bewegungsaktivität reagierten.

Die Ergebnisse von 12 Tests sind numerisch in Tabelle 2 zusammengefaßt. Wie daraus zu entnehmen ist, ergab sich die durchschnittliche wirkstoffbezogene Reaktionskonzentration für dieses Insektizid zu $56,9 \pm 6,3$ ppm.

In der Perfekthion-Testreihe wurde beobachtet, daß die nach der Zugabe des Schadstoffes auftretende panikartige Unruhe der Testfische im Vergleich zu den Versuchen mit Pril weitaus öfters durch kurze Ruhephasen unterbrochen war. Dieser Unterschied ist beim Vergleich der Abbildungen 17 und 18 gut ersichtlich. Es wird vermutet, daß sich hier durch Perfekthion gewisse Lähmungen bei den Fischen infolge der Phosphorsäureesterwirkung (vgl. Seite 97) bemerkbar machten. Damit stimmt auch die visuelle Beobachtung überein, daß die Fische in ihrer Unruhephase taumelnde Körperbewegungen zeigten, was auf eine Beeinträchtigung des Gleichgewichtsinnes schließen läßt. Darüberhinaus fiel auf, daß bei

3 Testfischen eine deutlich meßbare "Nachreaktion" der Bewegungsaktivität registriert wurde (Abbildung 19), nachdem das Versuchsgefäß bereits einige Zeit mit Frischwasser geflutet worden war. Eine Erklärung für diese "Nachreaktion" kann allerdings nicht gegeben werden. Es sei jedoch angemerkt, daß von EICHELBERGER (1982) ein ähnliches Phänomen bei Forellen durch Einwirkung eines kationisch wirksamen Detergens (DSDMAC) beobachtet wurde.

Die Brauchbarkeit des Motilitätstests mit Panzerwelsen wird auch durch die Ergebnisse mit Perfekthion bestätigt (Variabilität $\pm 11\%$). Für eine direkte Wertung der numerischen Resultate liegen auch hier aus der Literatur keine Daten vor. Lediglich die an Moskitofischen bestimmte LC 50/48 h von 40 - 60 ppm für Dimethoate ist bekannt (PERKOW, 1983/85). Die in den hier durchgeführten Motilitätstests mit Panzerwelsen gefundenen durchschnittlichen Reaktionskonzentrationen von $56,9 \pm 6,3$ ppm stimmen damit überein.

Das Fehlen entsprechender Daten für Perfekthion ist verständlich, da es sich hierbei um einen relativ neuen Wirkstoff handelt. Nur für ältere Insektizide (Parathion, Chlorthion, Diazinon, Malathion, Dipterex) liegen aus Studien über die Nebenwirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Fische und Fischnährtiere Werte

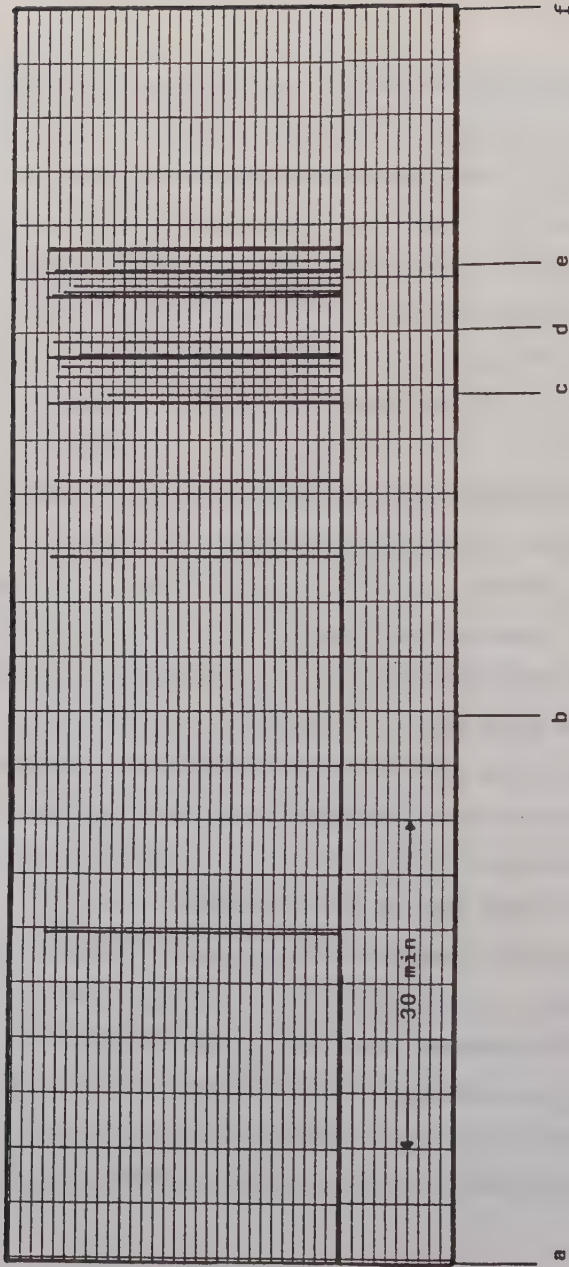


Abbildung 18

Motilitätsänderung eines Panzerwelses bei Zugabe eines Insektizides (Perfekthion)

a - b = Vorlauf ("normale Bewegungsaktivität"); b - c = Schadstoffeinleitung; c = Bestimmung von Reaktionswert (Bewegungsaktivität) und Reaktionskonzentration (Schadstoff); d - e = Frischwasserflutung; e - f = Nachlauf.

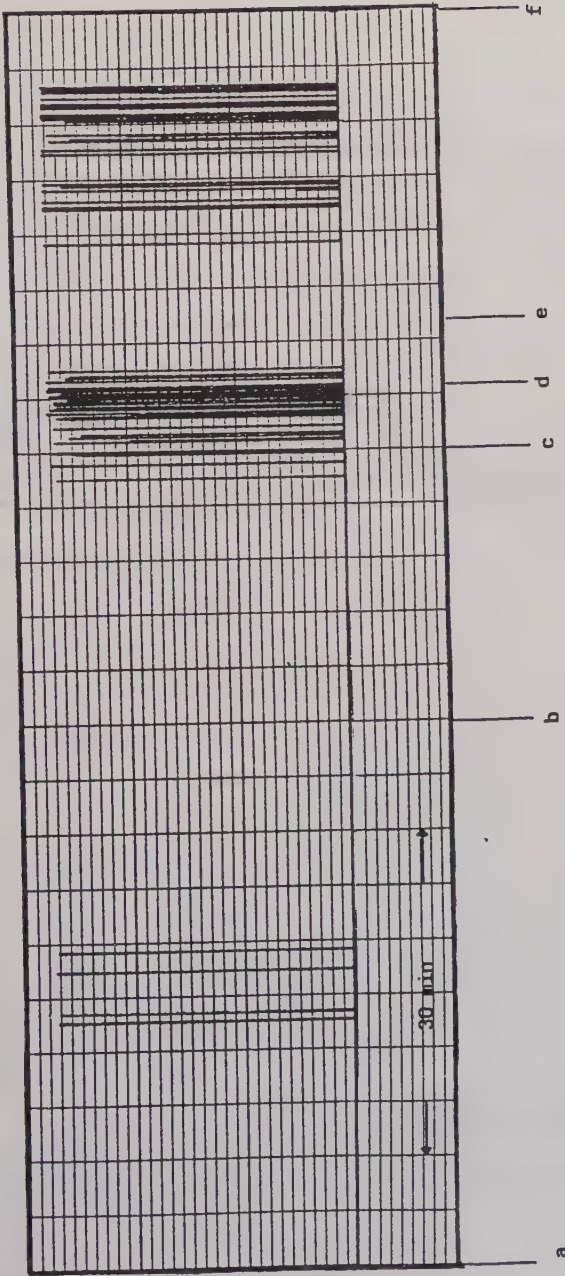


Abbildung 19

Motilitätsänderung eines Panzerwelses bei Zugabe eines Insektizides (Perfekthion)

a - b = Vorlauf ("normale Bewegungsaktivität"); b - c = Schadstoffeinleitung; c = Bestimmung von Reaktionswert (Bewegungsaktivität) und Reaktionskonzentration (Schadstoff); d - e = Frischwasserflutung; e - f = Nachlauf mit Nachreaktion.

Tabelle 2

Motilitätsänderungen von Panzerwelsen und Reaktionskonzentrationen bei Zugabe eines Insektizides (Perfekthion)

Test- Nr.	Bewegungsaktivität [Meßimpulse/min]			Reaktions- konzentration (Wirkstoff) [ppm]
	Vorlauf		Reaktionswert	
	Durchschnitt	Maximum		
1	0,1	1	8	56,2
2	0,2	9	18	68,7
3	0,1	6	14	56,2
4	1,5	6	13	57,8
5	0,4	7	12	54,7
6	1,1	9	23	57,8
7	0,5	8	11	68,7
8	1,1	9	17	54,7
9	1,5	10	14	54,7
10	1,0	10	22	48,5
11	0,4	7	18	53,2
12	0,1	2	10	51,6

Über toxische Konzentrationen vor ¹⁾, die jedoch für die hier anstehende Diskussion nicht verwendbar sind. Die derzeitige Problematik bei der Zulassung von neuen Pflanzenschutzmitteln beschreibt SCHULZ (1981). Dazu sind nach dem Pflanzenschutzmittelgesetz (1961) auch Fischtests zur Ermittlung der Fischtoxizität vorgeschrieben. Das Procedere des derzeitigen Prüfverfahrens auf Zulassung von Pflanzenschutzmitteln ist in Abbildung 20 schematisch dargestellt.

Die generelle Giftigkeit von Perfekthion wurde in Toxizitätstests an Ratten geprüft, indem für diese Tiere eine orale LD 50 von etwa 250 ppm festgestellt wurde.

Wirkstoff von Perfekthion ist der Phosphorsäureester Dimethoate. Vergiftungsbild und -ablauf mit Phosphorsäureestern bei Fischen wurde wie folgt beschrieben (Zitat, vgl. Fußnote ¹⁾: "Die Tiere wirken enthemmt und schwimmen unter heftig zitternden Bewegungen. Der caudale Rumpfabschnitt mit der Schwanzflosse schlägt dabei fast rechtwinkelig aus. Die Brustflossen schlagen schnell vibrierend. Die Kiemendeckel sind weit ab-

¹⁾ aus: Mitteilungen der biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, Heft 105, Seite 1 - 10, 36; 1961.

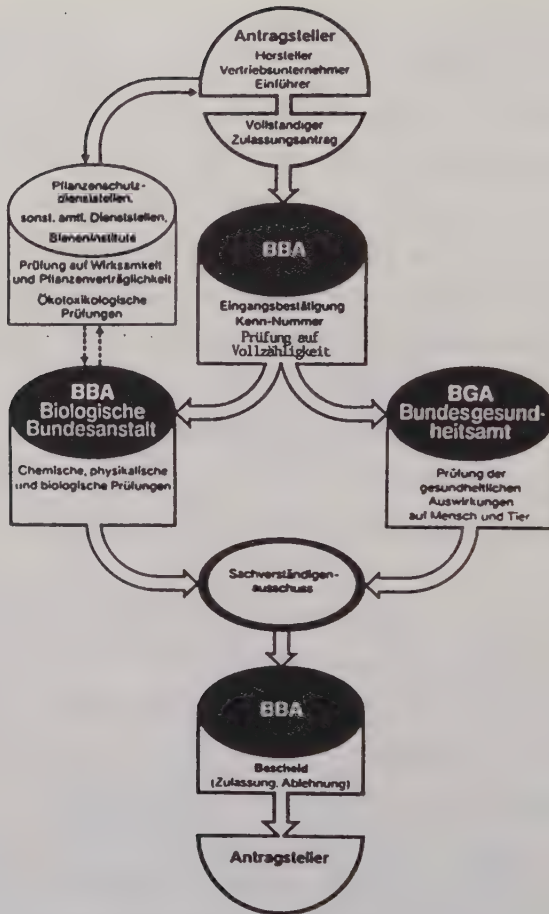


Abbildung 20

Pestizidprüfverfahren in der BR Deutschland

(aus: Mitteilungen der biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, Heft 216, Seite 25, 1983.)

gespreizt. Speziell für Parathion-Vergiftungen typisch sind die heftigen Atembewegungen. Es ist eine extreme Dunkelfärbung der Zeichenelemente zu beobachten. Leicht geschädigte Fische stehen meist ruhig oder schaukelnd im Wasser und zeigen besonders bei Reizung ein deutlich schnelleres Schlagen der Brustflossen. Bei fortgeschrittener Vergiftung werden die Bewegungen unkoordiniert, die Fische überschlagen sich nach vorne oder der Seite, sie bleiben dann schwankend auf dem Rücken liegen. Bei der Phosphorsäureestervergiftung folgt auf den Erregungszustand eine Koma-ähnliche Phase, aus der heraus der Tod oder eine langsame Erholung erfolgt. Setzt man wiedererholte Fische in reines Wasser um, so tritt häufig eine schwere Schockwirkung mit extremen Erregungszuständen auf, die nicht selten zum Tode führen. Neben degenerativen Veränderungen der Augen konnte auch eine stark verminderte Fruchtbarkeit festgestellt werden."

LÜDEMANN und NEUMANN (1961, 1969) beschreiben das Vergiftungsbild von neueren Kontaktinsektiziden bei einsömmrigen Karpfen: Die Tiere zeigen zunächst eine deutlich erhöhte Atemfrequenz, sind unruhig und springen z.T. aus dem Wasser. Seitenlage und unmerklicher Tod schließen sich an.

SCHÄPERCLAUS (1979) stellt fest, daß Phosphorsäureester

für Fische hoch bis mäßig akut toxisch sind. Die Wirkung liegt in einer Hemmung der Acetylcholinesterase. Bereits 0,1 µg im Fischhirn bewirken einen Ausfall dieses Enzymes, so daß es zu einer neuralen Dauererregung kommt.

Auch BRAUN (1980) beschreibt die biochemische Wirkung der Phosphorsäureester auf Fische. Er weist nach, daß ein Abfall der Acetylcholinesterase - Aktivität unter 17,7 % des Normalwertes den drohenden Exitus der Tiere anzeigt. FORTH et al. (1983) beschreiben ebenfalls Pharmakokinetik, genauen Wirkmechanismus und Vergiftungssymptome durch Phosphorsäureester. Die Giftigkeit dieser Substanzen ist aufgrund von Unterschieden in der Dimension des katalytischen Zentrums der Acetylcholinesterase stark speziesabhängig. Deshalb können diese Verbindungen von Insekten im Gegensatz zu Warmblütern nur sehr langsam entgiftet werden.

Bei pathologischen Untersuchungen der durch Gifteinwirkung getöteten Fische zeigen sich keine spezifischen Veränderungen von inneren und äußeren Organen (BRAUN, 1980). Gaschromatographische Analysen ergaben je nach Insektizid verschieden hohe Rückstände. So akkumulieren sich diese Stoffe hauptsächlich in der Leber, gefolgt von Kiemen und Rückenmuskulatur. Pathologisch - anatomisch lassen sich folgende Schäden nachweisen:

Gewichtsverlust, stellenweiser scholliger Zerfall der Bauchmuskulatur, Nekrosen an der Epidermis, völlige Ablösung der Schleimhaut, Zerfall der Kiemenblätterspitzen und Blutaustritt. Das Leberparenchym weist in Gefäßnähe erhebliche Zellschäden auf.

Während bezüglich der Veränderung des Bewegungsverhaltens durch Einwirkung von Perfekthion in den hier durchgeführten Tests eine gewisse Übereinstimmung zu den obigen Beschreibungen festzustellen war, konnten bei den Tests wegen der nur sehr geringen Einwirkzeit des Schadstoffes die beschriebenen Vergiftungssymptome nicht beobachtet werden.

Bei der Sektion von 4 im Test mit Perfekthion verwendeten Panzerwelsen konnten keinerlei Organveränderungen festgestellt werden.

4.4. Untersuchungen mit Tubificiden

Bekanntlich wird aus ethischen und tierschützerischen Gründen von verschiedenen Seiten her zunehmend gefordert, Tierversuche mit Wirbeltieren, soweit möglich, durch Alternativtests mit in der zoologischen Systematik niedriger stehenden Organismen zu ersetzen. Das neue Tierschutzgesetz sowie das Abwasserabgabengesetz

tragen diesem Bestreben Rechnung.

Einen Überblick über die verschiedenen, bisher erprobten Testverfahren mit Wirbellosen zur Feststellung der Toxizität von im Wasser auftretenden Schadstoffen gaben die Seiten 30 - 37. Man muß jedoch feststellen, daß weder die verwendeten Versuchstierspezies noch die entwickelten Testverfahren befriedigende Ergebnisse erbringen. Einzig der Motilitätstest mit Daphnien (Seite 37) scheint ein Ansatz zur Lösung des Problems zu sein; er befindet sich deshalb auch bereits im praktischen Einsatz.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Brauchbarkeit des Motilitätstests mit bisher nur im Letalitätstest eingesetzten Tubificiden als Testorganismen geprüft: Schlammröhrenwürmer ballen sich in einem mit frischem Wasser gefüllten Hälterungsgefäß stets zu einem charakteristischen Knäuel zusammen. Nimmt die Wasserqualität ab, versuchen die Würmer zu entkommen, wodurch sich das Knäuel auflöst. Es zeigte sich, daß diese Veränderung des Bewegungsverhaltens der Tubificiden mit Hilfe des beschriebenen optisch-optoelektronischen Motilitätsmeßverfahrens registriert werden kann. Zur Durchführung des Tubifex-Motilitätstests mußte das auf Seite 63 beschriebene Versuchsgefäß entwickelt wer-

den. Von besonderer Bedeutung war hierbei, eine schnelle und gleichmäßige Zufuhr der Schadstofflösung in den Meßraum zu erreichen. Dieses Problem wurde durch Einleitung der Schadstofflösung über zahlreiche feine Bohrungen in der Meßraumwand zentripetal in den Testraum gelöst (Seite 64). Dadurch wurde auch die notwendige homogene Verteilung der Schadstofflösung im Meßraum erzielt. Dies wurde durch Zugabe einer 0,1%-igen Methylenblaulösung überprüft. Abbildung 16, die dies verdeutlicht, zeigt weiterhin, daß - bei der hier gewählten Zulaufgeschwindigkeit von 1 ml Schadstofflösung pro Minute - im Zentrum des Meßraumes ein strömungsschwacher Bereich entstand. Da sich dort die Tubificiden üblicherweise zusammenballten, wurden sie durch die Wasserströmung nicht auseinandergewirbelt.

Die für die optisch-optoelektronische Registrierung der Tierbewegungen notwendige gleichmäßige Ausleuchtung des Meßraumes wurde dadurch erreicht, daß das Versuchsgefäß durch einen waagerecht positionierten Röntgenbild-Betrachtungsschirm von unten beleuchtet wurde (Abb. 15). Der Erwärmung des Meßgefäßes durch die Beleuchtungseinrichtung wurde durch das Betreiben des Versuchsgefäßes in einem Temperierbad vorgebeugt. Da in der Versuchsanordnung Oberflächenwellen oder andere den optischen Meßvorgang beeinflussende externe Störfaktoren nicht

auftraten, konnte auf entsprechende Vorkehrungen zur Beseitigung diesbezüglicher Artefakte verzichtet werden. Bezüglich der ausreichenden Sauerstoffzufuhr der Tubificiden während des Tests sei erwähnt, daß diese trotz fehlender Wasserumwälzung im Meßraum infolge der großen Oberfläche des Versuchsgefäßes selbst noch nach 4 1/2 Stunden gewährleistet war. Zu dieser Annahme berechtigt die Beobachtung, daß die Tubificiden in entsprechenden Langzeittests keine Änderungen ihres Bewegungsverhaltens aufwiesen.

Abbildung 21 zeigt die typische Knäuelformation eines Tubifex-Kollektives in frischem Leitungswasser. Diese Formation hatten die Würmer jeweils maximal 3 Minuten nach dem Einsetzen in das Versuchsgefäß eingenommen. Im sogenannten Vorlauf (60 min) kam es zu keiner bemerkenswerten Veränderung von Größe oder Verdichtung der "Wurmkugel". Die herausragenden kaudalen Wurmenden schlängelten dabei mit gleichbleibender Frequenz und Elongation.

Während der Schadstoffeinleitung war dann bei Erreichen der Reaktionskonzentration folgendes Verhalten der Tubificiden festzustellen: Zunächst zogen sich alle randständigen Individuen schlagartig in das Knäuel zurück. Danach begannen die Tiere mit intensiver wer-

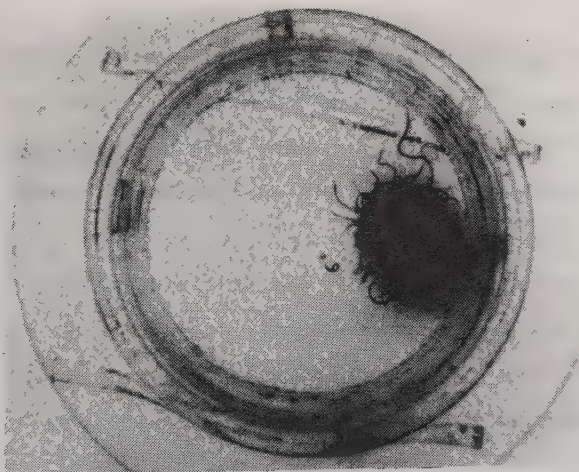


Abbildung 21:

Typische Knäuelformation eines Tubifex-Kollektives in Wasser guter Qualität

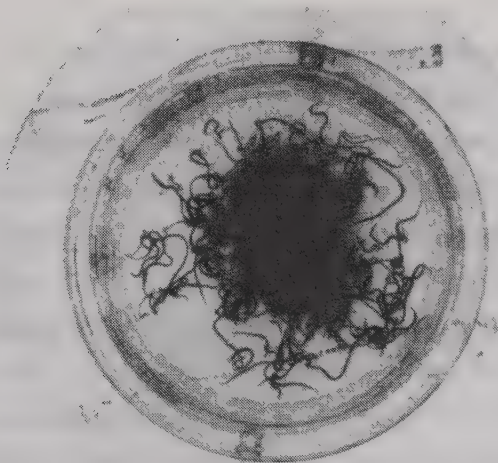


Abbildung 22:

Auflösung der Knäuelformation der Tubificiden bei Schadstoffeinwirkung

denden Schlängelbewegungen abzuwandern. Nach wenigen Sekunden hatte sich dann das "Wurmknäuel" aufgelöst, und alle Tubificiden zeigten sehr heftige undulierende Körperbewegungen. Diese Situation wird in Abbildung 22 dargestellt.

Wurde das Versuchsgefäß nach dem Test mit Frischwasser geflutet, bewegten sich die Tubificiden langsam aufeinander zu und nahmen nach einiger Zeit wieder ihre frühere Knäuelformation ein.

Das Ergebnis der meßtechnischen Registrierung der Veränderung der Bewegungsaktivität von Tubificiden durch Schadstoffwirkung zeigen die in den Abbildungen 23, 24, 25 und 26 dargestellten Aktogramme.

Im Gegensatz zu den Versuchen mit Panzerwelsen wurden die Untersuchungen mit Tubificiden mit einem Tierkollektiv von jeweils etwa 2 g Wurmmasse durchgeführt (Seite 69). Damit wurde der große Vorteil erzielt, daß individuell unterschiedliche Reaktionen der Würmer auf die Wassergüteabnahme ausgeglichen wurden. Auf diese Weise konnte die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse wesentlich erhöht werden.

Aufgrund der stochastisch verteilten Spontanaktivitäten der einzelnen Schlammröhrenwürmer gleicht die in den Aktogrammen (Abb. 23 - 26) aufgezeichnete Gesamt-

Bewegungsaktivität des Tierkollektives einer nahezu konstanten Dauermotilität. Dennoch konnte in den Tests von der im Vorlauf ermittelten "normalen" Motilität (Abschnitt a - b der Abb. 23 - 26) die durch Einwirkung eines Schadstoffes bedingte Zunahme der Bewegungsaktivität des Tierkollektives (Abschnitt c - d der Abb. 23 - 26) eindeutig abgegrenzt werden.

Übereinstimmend zu den graphischen Befunden gelingt die rechnerische Absicherung der Motilitätsänderung zuverlässig nach dem auf Seite 68/69 beschriebenen Verfahren. Diese Rechenmethode ist sozusagen die Umkehrung eines allgemein üblichen, statistischen Vorgehens zur Erkennung sogenannter "Ausreißer" in einer Meßwertreihe. Der hier als Kriterium für die Motilitätszunahme benutzte Prüfwert wurde als ein solcher "Ausreißer" für die Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$ berechnet. Dieser Wert gehörte somit einer anderen Grundgesamtheit an als die im Vorlauf pro Meßintervall ermittelten Motilitätswerte. Es konnte daher angenommen werden, daß die durch Schadstoffeinwirkung bedingte Motilitätszunahme sich dann statistisch von der "normalen" Bewegungsaktivität unterschied, wenn die nach Schadstoffeinleitung registrierten erhöhten Motilitätswerte den obigen Prüfwert numerisch überschritten.

4.4.1. Testergebnisse mit einem Spülmittel (Pril)

Abbildung 23 zeigt als repräsentatives Aktogramm (Versuchs-Nr. 1) die Veränderung der Bewegungsaktivität eines Tubifex-Kollektives (2,10 g) durch Einwirkung des Spülmittels Pril. Für die "normale" Gesamt-Bewegungsaktivität der Tubificiden wurden im Vorlauf (a - b) pro Minute im Durchschnitt 51,6 Meßimpulse registriert (vgl. Tabelle 3). Der Maximalwert lag bei 90 Meßimpulsen/min. Als statistischer Prüfwert wurden 95,2 Meßimpulse/min errechnet. Nach Zugabe der Schadstofflösung (b - c) erhöhte sich dann die Bewegungsaktivität deutlich sichtbar. Der Reaktionswert ergab sich zu 133 Meßimpulsen/min. Im Durchschnitt war die Bewegungsaktivität der Tubificiden in der Reaktionsphase mit 275 Meßimpulsen/min um das 5 - 6-fache gegenüber dem Vorlauf erhöht. Wie die Abbildung 23 zu erkennen gibt, erholten sich die Schlammröhrenwürmer nach Stoppen der Schadstoffzufuhr und anschließender Frischwasser-Flutung sehr rasch. Bemerkenswert ist, daß in den Tests mit Pril im Gegensatz zu den nachfolgenden Versuchen jeweils einige Tubificiden letal geschädigt waren. Dadurch reduzierte sich die Gesamtmotilität des verbleibenden Wurmkollektives geringfügig (vgl. Abschnitt e - f, Abb. 23).

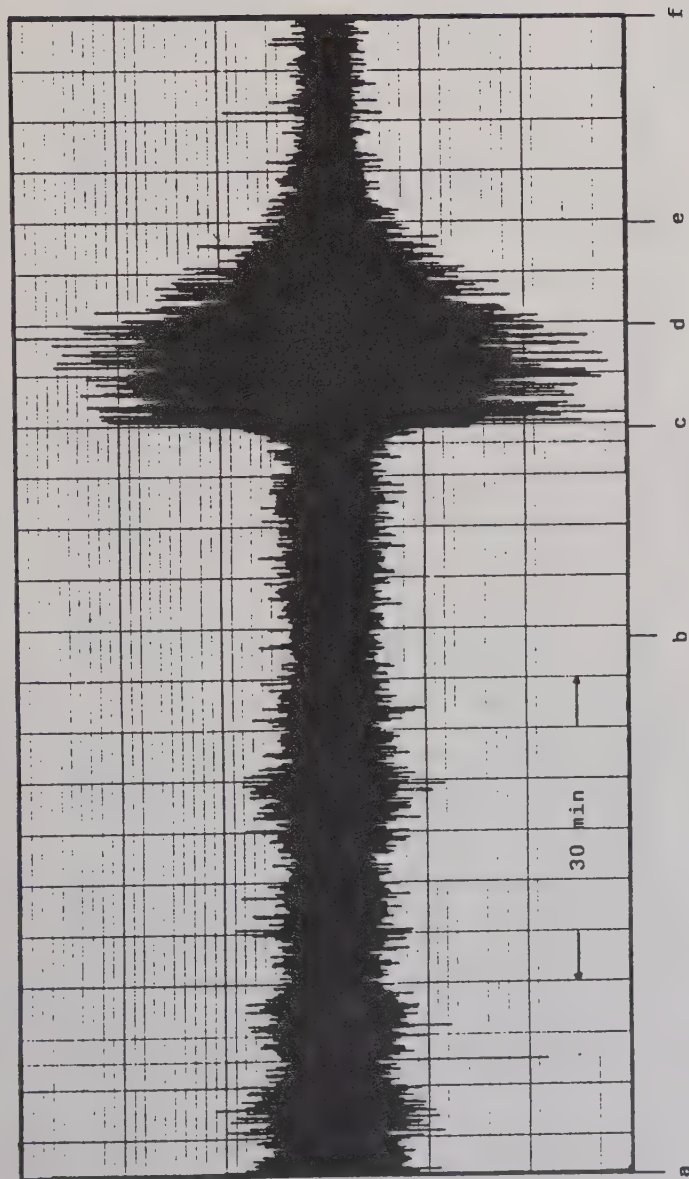


Abbildung 23

Motilitätsänderung eines Tubifex-Kollektives bei Zugabe eines haushaltsüblichen Spülmittels (Pril)

a - b = Vorlauf ("normale Bewegungsaktivität"); b - c = Schadstoffeinleitung; c = Bestimmung von Reaktionswert (Bewegungsaktivität) und Reaktionskonzentration (Schadstoff); c - d = Reaktionsphase; d - e = Frischwasserflutung; e - f = Nachlauf.

Tabelle 3

Motilitätsänderung eines Tubifex-Kollektives und Reaktionskonzentrationen bei Zugabe eines haushaltsüblichen Spülmittels (Pril)

Test-Nr.	Tubifex-masse [g]	Vorlauf		Bewegungshäufigkeit [Meßimpulse/min]		Reaktionsphase		Reaktionskonzentration [ppm]
		Durchschnitt	Maximum	Prüfwert	Reaktionswert	Durchschnitt		
1	2,10	51,6	90	95,2	133	274,8	47,5	
2	2,08	119,5	167	205,0	262	272,5	39,6	
3	2,06	85,3	153	143,1	200	234,1	38,7	
4	2,10	107,6	162	186,9	242	241,3	47,5	
5	2,06	49,7	161	134,5	193	258,0	47,6	
6	2,04	103,6	148	150,8	175	240,1	38,7	
7	2,09	52,1	105	128,2	170	254,0	38,7	
8	2,04	101,3	160	140,6	229	258,7	38,7	
9	2,03	77,7	167	154,5	197	240,4	37,8	
10	2,05	70,9	113	112,8	189	248,3	38,7	
11	2,08	64,9	108	115,0	204	260,7	47,5	
12	2,06	122,5	196	218,5	241	269,3	38,7	
13	2,06	83,7	164	162,6	169	261,8	38,7	
14	2,00	60,4	163	135,4	203	264,4	38,7	
15	2,05	52,6	89	97,0	191	250,9	38,7	

Die numerischen Ergebnisse von 15 Tests mit dem Spülmittel Pril finden sich in Tabelle 3. Daraus geht hervor, daß für diesen Schadstoff die ermittelten Reaktionskonzentrationen zwischen 37,8 und 47,6 ppm schwankten. Der Durchschnittswert errechnete sich zu $41,1 \pm 4,5$ ppm. Mit der guten Reproduzierbarkeit (Variabilität $\pm 11\%$) dieser Resultate wird die Brauchbarkeit des optisch-optoelektronischen Motilitätstests mit Tubificiden für die Gewässerkontrolle angezeigt.

Soweit bekannt, führte nur MANN (1962, zit. nach SCHÄPERCLAUS, 1979) Untersuchungen zur Schadwirkung von Tensiden auf Schlammröhrenwürmer durch. Er fand die LC 100/48 h mit 5 ppm. Diesem Befund läßt sich das hier gefundene Resultat wegen der sehr verschiedenen Einwirkdauer des Schadstoffes nur sehr bedingt gegenüberstellen. Da die Wirkung eines Schadstoffes auf einen Testorganismus stets aus Einwirkdauer und -konzentration resultiert, mußte sich die hier bestimmte Reaktionskonzentration wegen der Einwirkdauer von nur etwa 10 Minuten zwangsläufig sehr viel höher ergeben als der bei einer Einwirkdauer von 48 Stunden gefundene Konzentrationswert. Andererseits wird damit auch verständlich, daß im Kurzzeittest eine weitaus höhere Schadstoffkonzentration nur eine Störung des Wohlbe-

findens des Testorganismus - angezeigt durch eine Motilitätsänderung - bewirkt, während im Langzeittest eine weitaus niedrigere Schadstoffkonzentration zum Tode der Testorganismen führt. Die letale Schädigung der Tubificiden durch Tenside ergibt sich durch deren lipidlösende Eigenschaften, wodurch die Zellmembranen des Integumentes aufgelöst werden. Es kommt dadurch zu einer Störung des osmotischen Gleichgewichtes und schließlich zu einer vollkommenen Lyse des Gesamttieres.

Die hier an Tubificiden und Panzerwelsen jeweils im Motilitätstest ermittelten Reaktionskonzentrationen dürfen jedoch in methodischer Hinsicht ohne Einschränkung einander gegenübergestellt werden. Somit muß die zwischen den beiden Ergebnissen (28,5 ppm für Panzerwelse; 41,1 ppm für Tubificiden) bestehende numerische Differenz auf tierartlich unterschiedliche Empfindlichkeiten gegenüber dem eingesetzten Prüfschadstoff zurückgeführt werden. Dies stimmt auch mit den von REICHENBACH-KLINKE (1978 b) gemachten Beobachtungen überein, daß Testergebnisse mit Wirbellosen und Fischen nur wenig zueinander korrelieren.

4.4.2. Testergebnisse mit einem anionischen Tensid (SDS)

Das mit Abbildung 24 als repräsentatives Beispiel wiedergegebene Aktogramm (Versuchs-Nr. 3) eines Tubifex-Kollektives zeigt, daß Schlammröhrenwürmer auch auf das anionisch aktive Tensid "SDS" mit einer deutlich meßbaren Verstärkung ihrer Bewegungsaktivität reagieren. Die mit diesem Schadstoff in 10 Tests ermittelten Reaktionskonzentrationen sind in Tabelle 4 aufgeführt. Der diesbezügliche Mittelwert ergab sich zu $71,1 \pm 5,4$ ppm (Variabilität $\pm 7,6\%$).

Mit diesem Befund finden die bisherigen Ergebnisse bezüglich der hier entwickelten Methodik eine weitere Bestätigung. Für eine Wertung der Resultate in numerischer Hinsicht jedoch liegen in der Literatur keine entsprechenden Hinweise vor.

4.4.3. Testergebnisse mit einem Insektizid (Perfekthion)

Die mit dem Insektizid Perfekthion erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 25 (repräsentatives Aktogramm) und Tabelle 5 festgehalten. Die für Tubificiden bestimmte wirkstoffbezogene Reaktionskonzentration war mit $173,8 \pm 14,7$ ppm (Variabilität $\pm 8,5\%$) bemerkenswerterweise dreimal höher als die hier für Panzerwelse bestimmte

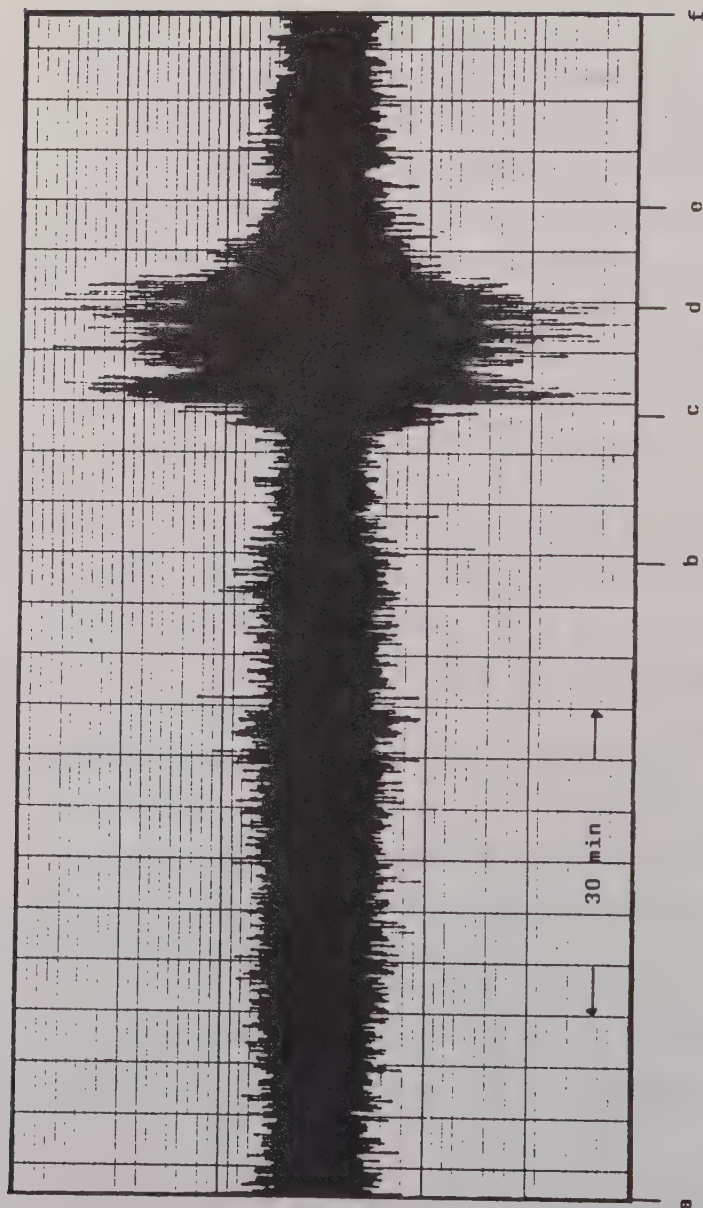


Abbildung 24

Motilitätsänderung eines Tubifex-Kollektives bei Zugabe eines anionischen Tensides (SDS)

a - b = Vorlauf ("normale Bewegungsaktivität"); b - c = Schadstoffeinleitung; c = Bestimmung von Reaktionswert (Bewegungsaktivität) und Reaktionskonzentration (Schadstoff); c - d = Reaktionsphase; d - e = Frischwasserflutung; e - f = Nachlauf

Tabelle 4

Motilitätsänderung eines Tubifex-Kollektives und Reaktionskonzentrationen bei Zugabe eines anionischen Tensides (SDS)

Test-Nr.	Tubifex-masse [g]	Vorlauf		Bewegungshäufigkeit [Meßimpulse/min]		Reaktionsphase Reaktionswert Durchschnitt	Reaktionskonzentration [ppm]
		Durchschnitt	Maximum	Prüfwert			
1	2,06	19,0	92	78,5	114	230,9	66,8
2	2,01	36,3	60	67,8	74	220,7	75,4
3	2,01	74,5	127	112,0	159	246,9	75,4
4	2,09	63,1	114	130,6	142	247,4	75,4
5	2,07	65,2	126	153,3	195	240,6	75,4
6	2,10	42,7	87	78,6	243	230,3	75,4
7	2,05	38,9	72	74,8	254	241,6	66,8
8	2,01	57,0	105	90,9	159	224,0	66,8
9	2,02	78,1	112	124,8	264	266,9	66,8
10	2,03	47,1	101	92,4	103	262,8	66,8

te mittlere wirkstoffbezogene Reaktionskonzentration von $56,9 \pm 6,3$ ppm. Demgegenüber steht die nur etwa 40% höhere Reaktionskonzentration der Tubificiden für das getestete Spülmittel Pril. Aus dieser Diskrepanz muß man ableiten, daß mit verschiedenen Testspezies für die einzelnen Schadstoffarten nicht derselbe Unterschied der Reaktionskonzentrations-Werte erwartet werden kann, da trotz gleichem physikalisch-chemischen Wirkungsmechanismus eines Schadstoffes die einzelnen Testorganismen hierauf aufgrund ihrer spezifischen anatomisch-physiologischen Charakteristika unterschiedlich reagieren.

Vor diesem Hintergrund stellt sich sicherlich die berechnete Frage nach dem geeigneten Testorganismus zur Feststellung der Schadstoffgefährdung eines Gewässers als Ökosystem.

4.4.4. Testergebnisse mit einem Herbizid (Roundup)

Die durch das Herbizid Roundup bei Tubificiden ebenfalls induzierte deutliche Steigerung der Bewegungsaktivität ist dem in Abbildung 26 wiedergegebenen Aktogramm zu entnehmen. Die numerischen Ergebnisse der Testreihe sind in der Tabelle 6 zusammengestellt. Es wurde die folgende mittlere wirkstoffbezogene Reak-

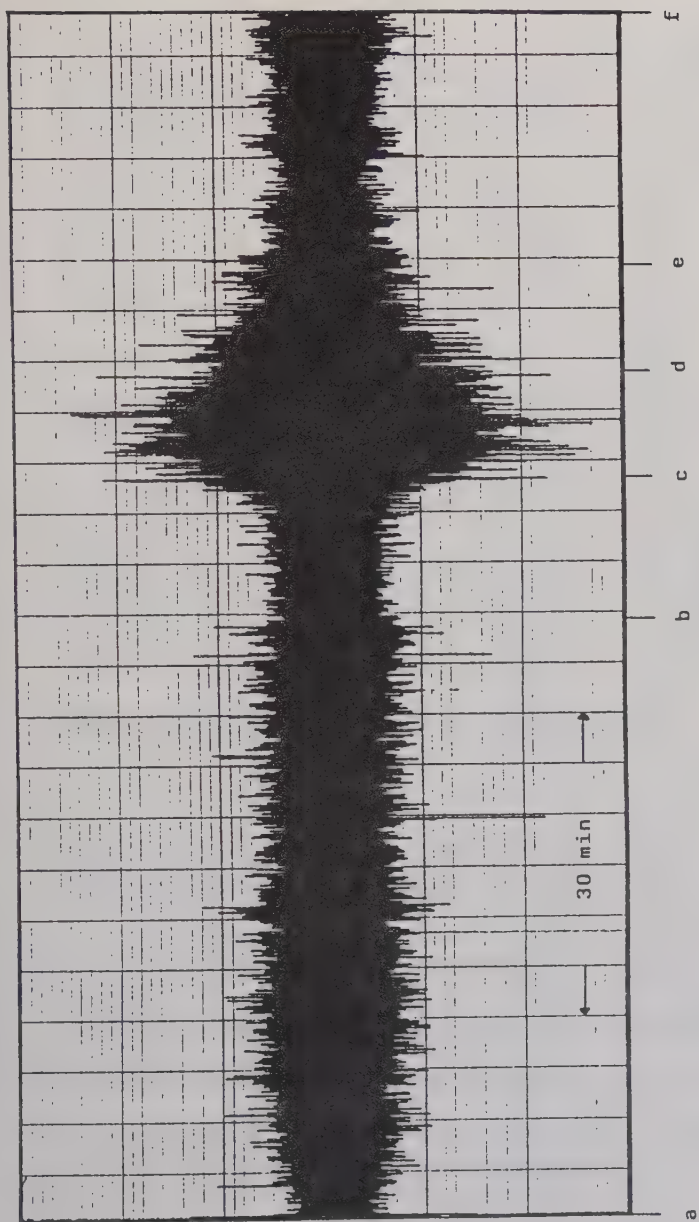


Abbildung 25

Motilitätsänderung eines Tubifex-Kollektives bei Zugabe eines Insektizides (Perfekthion)

a - b = Vorlauf ("normale Bewegungsaktivität"); b - c = Schadstoffeinleitung; c = Bestimmung von Reaktionswert (Bewegungsaktivität) und Reaktionskonzentration (Schadstoff); c - d = Reaktionsphase; d - e = Frischwasserflutung; e - f = Nachlauf.

Tabelle 5

Motilitätsänderung eines Tubifex-Kollektives und Reaktionskonzentrationen bei Zugabe eines Insektizides (Perfekthion)

Test-Nr.	Tubifex-masse [g]	Vorlauf		Bewegungshäufigkeit [Meßimpulse/min]		Reaktionsphase Reaktionswert Durchschnitt	Reaktionskonzentration (Wirkstoff) [ppm]
		Durchschnitt	Maximum	Prüfwert	Reaktionswert Durchschnitt		
1	2,10	81,5	115	119,9	120	243,5	187,1
2	2,07	45,2	78	76,7	129	206,1	187,1
3	2,08	69,4	119	104,3	153	254,0	187,1
4	2,04	43,9	111	108,7	166	240,6	187,1
5	2,06	68,0	99	105,0	250	226,5	162,4
6	2,01	49,1	108	105,6	136	213,4	187,1
7	2,04	46,1	118	90,8	236	245,3	162,4
8	2,01	78,9	159	120,3	203	246,5	162,4
9	2,03	55,5	118	97,2	142	231,7	187,1
10	2,02	66,9	117	140,3	168	234,3	162,5
11	2,06	69,3	130	128,1	157	224,1	162,5
12	2,05	55,2	110	121,4	214	251,1	160,0
13	2,02	50,7	120	105,3	139	234,2	162,5
14	2,05	72,9	133	107,9	237	243,3	162,5
15	2,06	47,7	84	80,7	150	281,9	187,1

tionskonzentration bestimmt: $25,4 \pm 1,9$ ppm. Die Variabilität der Einzelergebnisse war mit 7,5% besonders befriedigend. Damit wird ebenfalls die Brauchbarkeit des Motilitätstests mit Tubificiden zur Kontrolle eines Gewässers auf dort auftretende Schadstoffe angezeigt.

Allgemein kommt es bei Einwirkung von Herbiziden auf den tierischen Organismus in Abhängigkeit von der Konzentration zu einer Reizung bzw. Verätzung der Haut und Schleimhäute und gegebenenfalls zu einer Enzymhemmung (FORTH et al., 1983). Über eine Schädigung von Tieren durch das verhältnismäßig neue Herbizid Roundup (Wirkstoff: Isopropylaminsalz des Glyphosate) ist noch wenig bekannt. Es gilt aber bisher als nicht giftig für Fische. In der BR Deutschland erfolgte deshalb bis heute keine Giftklasseneinteilung. Dieser Tatbestand sollte jedoch angesichts der hier vorgelegten Resultate neu überdacht werden.

Die Giftigkeit von verschiedenen Herbiziden, ausgenommen das hier verwendete Roundup, für Tubificiden zeigte bereits AMMON (1985). Er fand für die LC 50/48 h Werte zwischen 64 - 144 ppm. Damit scheint nach den hier auf Seite 114 angestellten Überlegungen das Herbizid Roundup weitaus gefährlicher für Tubificiden zu sein, da diese in Motilitätstests darauf bereits bei einer Wirkstoffkonzentration von 25,4 ppm reagierten.

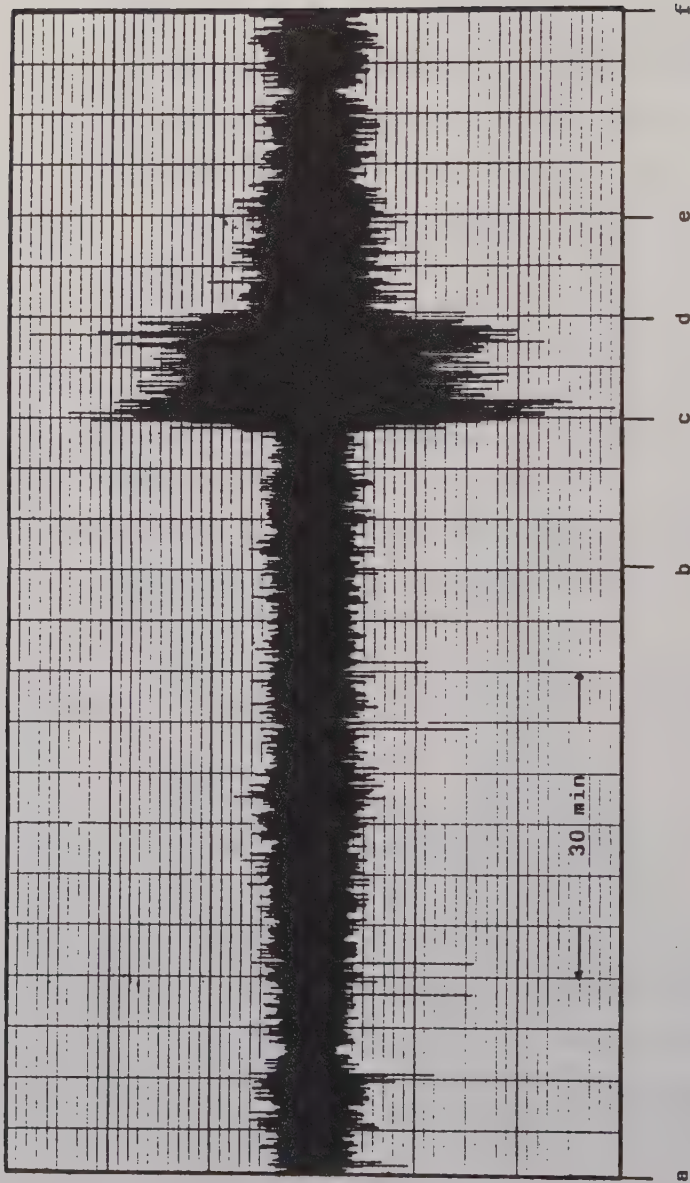


Abbildung 26

Motilitätsänderung eines Tubifex-Kollektives bei Zugabe eines Herbizides (Roundup)

a - b = Vorlauf ("normale Bewegungsaktivität"); b - c = Schadstoffeinleitung; c = Bestimmung von Reaktionswert (Bewegungsaktivität) und Reaktionskonzentration (Schadstoff); c - d = Reaktionsphase; d - e = Frischwasserflutung; e - f = Nachlauf.

Tabelle 6

Motilitätsänderung eines Tubifex-Kollektives und Reaktionskonzentrationen bei Zugabe eines Herbizides (Roundup)

Test-Nr.	Tubifex-masse [g]	Bewegungshäufigkeit [Meßimpulse/min]				Reaktionsphase Reaktionswert Durchschnitt	Reaktionskonzentration (Wirkstoff) [ppm]
		Vorlauf		Prüfwert			
		Durchschnitt	Maximum				
1	2,10	70,1	141	124,0	241	195,0	27,2
2	2,00	33,4	112	84,5	156	156,6	27,2
3	2,02	51,9	116	102,3	147	187,0	27,2
4	2,02	40,1	97	83,9	119	162,5	23,7
5	2,07	79,2	117	110,8	131	223,8	23,7
6	2,01	45,5	84	79,2	202	237,0	27,2
7	2,07	50,0	74	78,0	147	219,0	23,7
8	2,01	96,3	139	158,6	161	202,9	23,7
9	2,06	66,0	125	125,9	237	197,8	23,7
10	2,08	64,1	126	122,4	133	214,9	27,2

4.5. Schlußfolgerung

Durch die hier vorliegenden experimentellen Resultate wird die Brauchbarkeit des optisch-optoelektronischen Motilitätstest als Frühwarnsystem für die Gewässerkontrolle sowohl für die Verwendung von Panzerwelsen als auch von Schlammröhrenwürmern nachgewiesen. In allen durchgeführten Tests konnte bei beiden Testorganismen die durch verschiedene Schadstoffe induzierte Steigerung der Spontanaktivität meßtechnisch zuverlässig erfaßt werden. Damit vermag dieser Motilitätstest das Auftreten von Schadstoffen selbst in geringen Wassermengen frühzeitig und sicher anzuzeigen.

Entsprechend der guten Reproduzierbarkeit der Versuchsergebnisse mit Tubificiden bieten sich diese als brauchbare Alternativorganismen zu Fischen zur biologischen Gewässerkontrolle an. Durch die Möglichkeit, Tests jeweils an einem größeren Kollektiv von Schlammröhrenwürmern durchführen zu können, wird die Zuverlässigkeit des Testergebnisses durch Ausgleich individuell bedingter Reaktionsunterschiede erheblich gesteigert. Das bei den Tubifex-Tests eingesetzte statistische Auswertungsverfahren ermöglicht einerseits die rechnerisch exakte Bestimmung des Schadstoffkonzentrationswertes, bei dem die Erhöhung der Bewegungsaktivität der Testtiere

gesichert beginnt. Andererseits bietet sich dieses Verfahren an, die Auswertung der anfallenden Meßdaten fortwährend durch ein angeschlossenes Computer-System vornehmen zu lassen und damit eine vollkommene Automatisierung des Meßvorganges zu erreichen.

Ein Nachteil des hier eingesetzten Motilitätsmeßverfahrens besteht darin, daß zu dessen Durchführung wegen des optischen Wirkungsprinzipes stets eine ausreichende Lichtmenge im Meßraum vorhanden sein muß. Für eine Dauerkontrolle eines Gewässers müßte deshalb der hier beschriebene Motilitätstest unter Zuhilfenahme zweier parallel betriebener Meßvorrichtungen ausgeführt werden, die zur Schonung der Versuchstiere alternierend beleuchtet werden. Dieses Problem ist nunmehr hinfällig, da vor kurzem von PETRY (1988 a) ein Verfahren zur konformen optischen Messung der Tag- und Nachtmotilität von Versuchstieren durch simultane Verwendung von infrarotem Dauerlicht (Meßstrahlung) und sichtbarem Intervalllicht (Tag/Nacht-Wechsel) vorgestellt wurde. Darüberhinaus wird sich demnächst eine bedeutende methodische Verbesserung des hier im Prinzip als brauchbar nachgewiesenen Motilitätstests ergeben, wenn anstelle des hier verwendeten, selbst erstellten optischen Meßwertaufnehmers moderne Videotechnik zur Registrierung der Tierbewegungen eingesetzt werden kann (PETRY, 1988 b).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die Brauchbarkeit des Motilitätstests mit Panzerwelsen (*Corydoras schulzei*) und Schlammröhrenwürmern (*Tubifex tubifex* Müller) geprüft. Der Motilitätstest eignet sich als Frühwarnsystem zur kontinuierlichen Gewässerkontrolle. Testkriterium ist die sich infolge einer Störung des Wohlbefindens ändernde Bewegungsaktivität der Versuchstiere bei Auftreten von Schadstoffen im Wasser.

Zur Durchführung von Motilitätstests mit den genannten Tierarten wurden spezielle Versuchsvorrichtungen entwickelt und die Anwendbarkeit eines bereits bekannten optisch-optoelektronischen Meßverfahrens zur Registrierung der Bewegungsaktivität der Versuchstiere erprobt. Die Brauchbarkeit des Testverfahrens wurde anhand aktueller, in natürlichen Gewässern auftretender Schadstoffe (Pril, SDS, Perfekthion und Roundup) untersucht. Die durch diese Stoffe sowohl bei Panzerwelsen als auch bei Tubificiden induzierte Steigerung der Bewegungsaktivität konnte mit Hilfe des verwendeten Motilitätsmeßverfahrens gleichermaßen zuverlässig erfaßt werden. Die eine deutliche Aktivitätszunahme auslösenden Reaktionskonzentrations-Werte der Schadstoffe wurden, soweit möglich, vergleichbaren Resultaten der Literatur

gegenübergestellt und diskutiert.

Durch die erhaltenen Ergebnisse wird die Durchführbarkeit des optisch-optoelektronischen Motilitätstests mit kleinen Versuchstieren in entsprechend kleinen Wasserproben angezeigt. Darüberhinaus konnten mit Tubificiden geeignete alternative Testorganismen für Testfische zur kontinuierlichen Gewässerkontrolle gefunden werden.

SUMMARY

OPTIC-OPTOELECTRONIC MOTILITY TEST USING CORYDORAS SCHULZEII AND TUBIFEX TUBIFEX MÜLLER FOR BIOLOGICAL CONTROL OF WATERS

The qualification of the Motility Test using *Corydoras schulzeii* and *Tubifex tubifex* Müller was examined. The Motility Test is suited for an early warning system for continuous control of waters. Test criterion is the change of spontaneous activity of the experimental animals, due to a disturbance of their well-being caused by the appearance of toxicants in water.

For the performance of the Motility Test with the animal species above-mentioned, there were developed special experimental apparatus and the applicability of an already known optic-optoelectronic measuring method for recording the spontaneous activity of animals was proved. The qualification of this test method was examined on topical, in natural waters appearing toxicants (Pril, SDS, Perfekthion and Roundup).

The increase of the spontaneous activity induced by these substances in *Corydoras* as well as in *Tubificidae* could be recorded likewise reliably by the used motility measuring method. The reaction-concentration values, in-

ducing a clear increase of activity were confronted to comparable results of literature as far as possible and discussed. The practicability of the optic-opto-electronic Motility Test with small experimental animals in appropriate little water samples is indicated by the obtained results. Moreover, in Tubificidae suitable alternative test-organisms to test-fishes for continuous control of water were found.

6. LITERATURVERZEICHNIS

AHLF, W., 1985

Verhalten sedimentgebundener Schwermetalle in einem Algentestsystem, charakterisiert durch Bioakkumulation und Toxizität.

Vom Wasser 65, 183-188

ALFORT, L., S. TEILMANN-IBSEN und J. MÖRCH, 1980

Ergebnisse über Letalitätstests an Tubificiden bei Gabe von Saponinen, Anthelmintica, Chinocain-HCl und Strychnin-Nitrat.

Pharma Acta Helvetica 55, 187-188

AMMON, H.U., 1985

Worm toxicity test, using Tubifex tubifex.

Les colloques de l'INRA 31, 303-317

BATHE, R., L. ULLMANN und K. SACHSSE, 1972

Toxizitätsbestimmung von Pflanzenschutzmitteln an Fischen.

Vers. Wasser-Boden-Lufthygiene, Berlin-Dahlem 37, 241-256

BEAMISH, F.W.H. and P.S. MOOKHERJI, 1964

Respiration of fishes with special emphasis and standard oxygen consumption. Influences of weight and temperature on respiration of gold-fish.

Can. J. Zool. 42, 161-175

BESCH, W.K., 1977

Bioteste in der limnologischen Toxikologie.

Studien zum Gewässerschutz, Karlsruhe 1977, 12-13 und 158-159

BESCH, W.K., J. JUHNKE und A. KEMBALL, 1972

Zur Standardisierung des Fischtestes.

Vers. Wasser-Boden-Lufthygiene, Berlin-Dahlem 37, 31-37

- BESCH, W.K., H.G. LOSERIES, K. MEYER-WAARDEN und
W. SCHMITZ, 1974
Warntest zum Nachweis akut toxischer Konzentra-
tionen von Wasserinhaltsstoffen.
Arch. Hydrobiol. 74, 551-565
- BESCH, W.K., A. KEMBALL, K. MEYER-WAARDEN and
B. SCHARF, 1977
A biological monitoring system, employing rheo-
taxis of fish.
Am. Soc. Testing and Materials, STP 607, 56-74
- BIESINGER, K.E., 1972
Effects of various metals on survival, growth,
reproduction and metabolism of Daphnia magna.
J. Fish. Res. Bd. Can. 29, 1691-1700
- BRAUN, F., 1980
Zum Nachweis von Pestizidvergiftungen bei Fischen.
Fisch und Umwelt 8, 147-151
- BRINGMANN, G. und R. KÜHN, 1960
Vergleichende toxikologische Befunde an Wasser-
bakterien.
Gesundheits-Ing. 4, 115-120
- BRINGMANN, G. und R. KÜHN, 1978
Grenzwerte der Schadwirkung wassergefährdender
Stoffe gegen Blaualgen und Grünalgen im Zellver-
mehrungshemmungstest.
Vom Wasser 50, 45-60
- BRINKHURST, R.O., 1963
Taxonomical studies on the tubificidae (annelidae,
oligochaeta).
Akademie-Verlag Berlin, 7-20

BUCK, H., 1968

Die Ciliaten des Belebtschlammes in ihrer Abhängigkeit zum Klärverfahren.

Münchner Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flußbiologie 5, 202-222

BYRNE, J.E., 1970

Locomotor activity response in juvenile sockeye salmon to melanotonin.

Can. J. Zool. 48, 1425-1427

CAIRNS, J. und A.J. RUTHVENT, 1973

Die Verwendung von Fischen als Sensoren in der Industrie und zur Abwendung von Fischsterben.

Ref. Ber. Biochem. Biol. 385, 230-235

CAIRNS, J., R. SPARKS and W. WALTER, 1973

The developement of an automated biological monitoring system for water quality.

Hydrobiologica 41, 151-167

CORTI, U.A. und M. WEBER, 1948

Die Matrix der Fische II; Untersuchungen über die Vitalität von Fischen.

Schweiz. Z. Hydrol. 11, 297-300

CRIFE, C.R., 1979

An automat device (AGARS) for studying avoidances of pollutant gradients by aquatic organisms.

J. Fish. Res. Bd. Can. 36, 11-16

CUMMINGS, W.C., 1963

Movement of captive fish in behaviour studies.

Trans. Am. Fish. Soc. 92, 178-180

DAMBACH, M., 1963

Vergleichende Untersuchungen über das Schwarmverhalten von Tilapia-Jungfischen.

Z. Tierpsychologie 20, 267-296

DUTKA, B.J. and K.K. KWAN, 1984

Studies on a synthetic activated sludge toxicity screening procedures with comparison to three microbial toxicity tests.

in: Toxicity screening procedures using bacterial systems, B. J. Dutka, Dickson Liu, New York, 1984, 125-138

EICHELBERGER, M., 1982

Untersuchungen zur Brauchbarkeit des Motilitätstests mittels magnetmarkierter Versuchsfische für die kontinuierliche Gewässerkontrolle.

Diss. med. vet., München, 1982

FISCHER, W.K., 1978

Vergleichende Untersuchungen verschiedener Methoden zur Prüfung der Fischtoxizität unter besonderer Berücksichtigung des deutschen Goldorfen-tests und des ISO-Zebrafischtests.

Z. Wasser- und Abwasserforschung 11, 99-105

FOLKMER, L.C. and F. LEROY, 1976

Avoidance reaction of Rainbow Trout to nine herbicides.

Bull. Environm. Contam. 15, 509-514

FOULQUIER, L., B. REYNIER, A. GRANBY et P. BOVARD, 1971

Toxicité du Lindane sur l'anguille.

Procès-verbal de l'Acad. de France Séance, 1060-1068

FORTH, W., D. HENSCHLER und W. RUMMEL, 1983

Pharmakologie und Toxikologie.

4. Aufl., Wissenschaftsverlag Mannheim, 674

FRY, F.E.J. and J.S. HART, 1948

Cruising speed of goldfish in relation to water temperature.

J. Fish. Res. Bd. Can. 7, 169-175

GAPPUSO, P.A. and L.B. KINTER, 1973

DDT-Inhibition of active chlorophenol in goldfish renal tubulus.

Bull. Environm. Contam. Toxicol. 10, 181-186

GUNKEL, G., CH. HOPPE, M. KOSWIG, M. VOLL und G. AXT, 1983

Fluchtreaktionen von Fischen als Grundlage eines Fischtests.

Vom Wasser 61, 199-204

HAFEEZ, M.A. and B.J. BARBER, 1976

A method for monitoring spontaneous locomotor activity and resting behaviour in fishes.

• Physiology and Behaviour 16, 217-221

HALSBAND, E., 1953

Untersuchungen über das Verhalten von Forelle und Döbel bei Einwirkung von verschiedenen Außenfaktoren.

Z. Fischerei und deren Hilfswissenschaften 2, 227-270

HAMEN, R. and S. MATTHEWS, 1972

Avoidances of pesticides by untrained mosquito-fish.

Bull. Environm. Contam. Toxicol. 8, 46-51

HARISS, R.C., D.B. WHITE and R.B. MACFARLANE, 1970

Mercury compounds reduce photosynthesis by plankton.

Science 170, 736-773

HEATH, R., 1972

A critical comparison of methods of measuring fish respiratory movement.

Water Res. 6, 1-7

HEIMBRECHT, J. und J. MOLCK, 1987

Bericht über den Besuch bei Sandoz am 4.11.86
durch den Bundesverband der chemischen Industrie,
Frankfurt.

in: Rheinalarm, Pahl-Rugenstein Verlag Köln, 19, 212

HEMPEL, G., J. HEMPEL und K. LILLELUND, 1956

Studien zur Tageslichtperiodik der Aktivität von
Fischen III. Eine einfache mechanische Registrier-
einrichtung zur Untersuchung der Schwimmaktivität
von Bodenfischen.

Kurze Mitt. Inst. Fischereibiolog., Univers. Ham-
burg 6, 38041

HEUSNER, A.A. and J.T. ENRIGHT, 1966

Long-term activity in small aquatic animals.

Science 154, 532-538

HUBER, L., 1985

Stand der Kenntnisse über das ökologische Verhal-
ten von Tensiden.

Inst. Zoologie, Tiermed. Fakultät, Univers. München,
nicht veröffentlicht, 2-3

ISHIO, S., 1960

The reaction of fishes to toxic substances.

Jap. Bull. Soc. Scie. Fisheries 26, 349-353

JUHNKE, J., 1973

Neukonstruktion des Strömungsbeckens für die
automatische Nachweisvorrichtung von akuten In-
toxikationen.

Gewässer und Abwässer 52, 24-27

KNAUF, W., 1973

Bestimmung der Toxizität von Tensiden bei Wasser-
organismen.

Tenside, Detergens 10, 251-260

KNIE, J., 1978

Der dynamische Daphnientest, ein automatischer Biomonitor zur Überwachung von Gewässern und Abwässern.

Wasser und Boden 12, 310-312

KNIE, J., 1982

Der Daphnientest.

Dechonia Beihefte (Bonn) 26, 82-86

KNIE, J., A. HÄLKE, J. JUHNKE und W. SCHILLER, 1983

Ergebnisse der Untersuchungen von chemischen Stoffen mit vier Biotests.

Deutsche Gewässerkundliche Mitteilungen 27, 77-79

KÖRTING, W., 1972

Abwasserschäden am Fisch.

Münchner Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flußbiologie 21, 82-88

LAUBENBERGER, G. und L. HARTMANN, 1970

Speicherung von Schwermetallen in Flußsedimenten und ihr Einfluß auf die Schlammbiozönose.

Die Wasserwirtschaft 1, 372-375

LIEBMANN, H., 1962

Morphologischer Aufbau der Schlammröhrenwürmer.

Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie 1, Oldenburg-Verlag München, 95-105

LIEBMANN, H., 1969

Gewässergütekarte der BR Deutschland, Ausgabe 1969.

Münchner Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flußbiologie 15, Tafel 9

LILLELUND, K., 1967

Messungen der Aktivität von Fischen mit Hilfe magnetischer Marken.

Ber. dtsh. Wiss. Komm. Meeresforschung 19, 1-12

LÜDEMANN, D. und H. NEUMANN, 1960

Versuche über die akut toxische Wirkung neuzeitlicher Kontaktinsektizide auf einsömrige Karpfen.

Z. angew. Zool. 47, 11-33

MALZ, F. und J.K. REICHERT, 1983

Instrumente und Methoden zur Erkennung und Messung von Intoxikationen und anderen Störungen der Abwasser- und Schlammbehandlung.

Gewässerschutz-Wasser-Abwasser, 79-86

MANN, H., 1955

Die Einwirkung von grenzflächenaktiven Waschmitteln auf Fische und Fischnährtiere.

Arch. Fischereiwissenschaften 6, 131-137

MANN, H., 1965

Die Bedeutung der Waschmittel für die Fischerei.

Ernährungsindustrie 67, 977-980

MANN, H., 1975

Goldorfentest.

Vom Wasser 44, 1-13

MAUSER, H., 1961

Fehlerrechnung.

in: Foerst, W. (Hrsg.), Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, 3. Aufl., Bd. 2/1, Urban & Schwarzenberg-Verlag München-Berlin, 877

MEFFERT, D., 1968

Ultrasonic records for locomotor activities.
Trans. Am. Fish. Soc. 97, 12-17

MEIJERING, M.F.D., 1958

Herzfrequenz und Lebenslauf von *Daphnia magna*.
Zschr. wiss. Zool. 161, 239-265

METZNER, G., 1983

Fischtests im Rahmen nationaler und internationaler Regelungen; Untersuchungsmethoden in der Wasserchemie.

Münchner Beiträge zur Wasser-, Abwasser- und Flußbiologie 37, 43-45, 52

MOORE, R.L., 1984

Methods for increasing the usefulness of the *Spirillum volutans* motility test.

in: Toxicity screening procedures using bacterial systems, B.J. Dutka, Dickson Liu, New York, 1984, 109-124

MÜLLER, H., 1974

Untersuchungen über die Beziehung zwischen Körpertemperatur und Wassertemperatur bei verschiedenen Süßwasserfischen.

Diss. rer. nat. Zürich, 1974

MÜLLER, H.G., 1983

Untersuchungen über den Fischtest nach dem Abwasserabgabengesetz am Beispiel des Ablaufes der Kläranlage der BASF AG, Ludwigshafen.

Vom Wasser 61, 217-223

MÜLLER, W., 1984

Eine Studie über die Eignung und Anwendung des Motilitätstests mittels magnetmarkierter Forellen für den Gewässerschutz.

Diss. med. vet. München, 1984

NJISSEN, H., 1970

Revision of the Surinam Catfishes of the genus
Corydoras.

Diss. rer. nat. Univers. Amsterdam, 10-30

OBST, U., K. RESCH und T. FEUERSTEIN, 1985

Einfacher Toxizitätstest für Wasser und Abwas-
ser auf biochemischer Basis.

Vom Wasser 65, 199-202

PENNAK, U., 1973

Some evidences for aquatic macrophytes as repel-
lents for a limnetic species of *Daphnia*.

Int. Rev. Ges. Hydrobiol. 58, 569-576

PERKOW, W., 1985

Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlings-
bekämpfungsmittel.

2. Aufl., Bd.1, 1983/85, Paul Parey-Verlag Berlin

PERSOONE, G. and G. UYTTERSROT, 1975

The influences of organic pollutants on the rate
of reproduction of a marine hypotrichous ciliates
Euplotes vannus Müller.

Rev. Int. Océanogr. Med. 37/38, 125-151

PETRY, H., 1970

Verfahren und Vorrichtung zur Bewegungsmessung
von Tieren mit Hilfe von induzierten Spannungen.

DBP 2013898

PETRY, H., 1975

Motilitätsmessungen an Forellen mit Hilfe indu-
zierter Spannungen im Hinblick auf eine konti-
nuierliche Gewässerkontrolle.

Tierärztl. Praxis 3, 93-98

PETRY, H., 1976

Versuche zur meßtechnischen Erfassung von Fischgiften.

Fisch und Umwelt 2, 175-181

PETRY, H., 1977 a

Magnetmarkierte Testfische als Schadstoffindikatoren.

Landwirtsch. Forschung Sonderheft 34, 273-279

PETRY, H., 1977 b

Vorrichtung zur Registrierung der Bewegungsaktivität von Tieren auf optisch-optoelektronischer Grundlage.

DBP 2728894

PETRY, H., 1982

Der Motilitätstest, ein Frühwarnsystem zur biologischen Gewässerkontrolle.

Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. B.176, 391-412

PETRY, H., 1983

Optisch-optoelektronisches Verfahren zur Registrierung der Spontanaktivität von Tieren.

Z. Versuchstierkunde 25, 38-49

PETRY, H., 1988 a

Verfahren zur konformen optischen Messung der Tag- und Nachtmotilität von Versuchstieren durch simultane Verwendung von infrarotem Dauerlicht und sichtbarem Intervalllicht.

Z. Versuchstierkunde 31, 33-36

PETRY, H., 1988 B

Registrierung der Spontanaktivität von Versuchstieren durch Einsatz moderner Videotechnik.

Z. Tierphysiol., Tierernähr. u. Futtermittelkd., im Druck

POLSTER, M., 1973

Problems of toxicity of heptachlor residues.

Scr. Med. Fac. Med. Univers. Brunn, Purkynianae 46,
71-77

REICHENBACH-KLINKE, H.H., 1971

Methodik der Fischuntersuchung im Hinblick auf
die Wirkung von Abwassergiften.

Münchner Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und
Flußbiologie 19, 60-68

REICHENBACH-KLINKE, H.H., 1976

Die wesentlichen Parameter für das Erkennen einer
Beeinträchtigung des Wohlbefindens der Fische.

Fisch und Umwelt 7, 39-50

REICHENBACH-KLINKE, H.H., 1978 a

Begriffe und Definitionen in der Fischtoxikolo-
gie.

Fisch und Umwelt 9, 1-7

REICHENBACH-KLINKE, H.H., 1978 b

Toxikologische Tests mit Wirbellosen als Alter-
native zum Fischtest.

Fisch und Umwelt 9, 71-75

REICHENBACH-KLINKE, H.H., 1980

Der Fisch als Testobjekt.

Methoden der Toxizitätsprüfung an Fischen (Bericht
über ein DFG-Kolloquium, bearbeitet von G. Hermann),
Bold-Verlag Boppard, 11-19

RUHLAND, M.L. et A. HEUSNER, 1959

Chambre respiratoire pour la détermination si-
multanée de l'activité et de la consommation
d'oxygène par une méthode manométrique chez des
poissons de 3-10 g.

C. R. Soc. Biol. 153, 161-164

SANBORN, J.R., W.F. CHILDERS and R.L. LETCALF, 1975

Uptake of three polychlorinated biphenyls, DDT and DDE by green sunfish, *lepomis cyanellus*.

Bull. Environm. Contam. Toxicol. 13, 209-217

SCHÄPERCLAUS, W., 1979

Fischkrankheiten II, Vergiftungen.

4. Aufl., Akademie-Verlag Berlin, 882-900

SCHEIER, A. and J. CAIRNS, 1968

An apparatus of estimating the effects of toxicants on the critical flicker frequency response of Blue Gill Sunfish.

23rd Purdue Industrial Waste Conference, Preprint Ext. Ser. No.132/2, 849-855

SCHERER, E., 1975

Avoidance of Fenitrothion by goldfish.

Bull. Environm. Contam. Toxicol. 13, 492-496

SCHERER, E. and S. NOWAK, 1973

Apparatus for recording avoidance movement to fish.

J. Fish. Res. Bd. Can. 30, 1594-1596

SCHULZ, D., 1981

Grundlagen des toxikologischen Fischtests.

Fisch und Umwelt 10, 49-58

SIERP, F. und H. THIELE, 1954

Der Einfluß von grenzflächenaktiven Substanzen auf die Selbstreinigung von Flüssen.

Wasser 21, 197-246

SPIEGELBERG, T., J. LEHMANN, D. MOCK und T. GÖRTZ, 1984

Fischhepatocyten als mögliches Testsystem für
toxikologische Untersuchungen.

Fisch und Umwelt 13, 41-49

SPOOR, W.A., 1946

A quantitative study of the relationship between
the activity and oxygen consumption of the gold-
fish and its application to the measurement of
the respiratory metabolism in fishes.

Biol. Bull. Woods Hole Mass. 91, 312-325

SPOOR, W.A., T.W. NEIHEISEL and R.A. DRUMMOND, 1971

An electrode chamber for recording respiratory
and other movements of free swimming animals.

Trans Am. Fish. Soc. 100, 22-28

STEINHÄUSER, K.G. und W. Ammon, 1985

Bewertung des Wassergefährdungspotentiales von
Stoffen; Katalog wassergefährdender Stoffe.

Vom Wasser 65, 119-125

VASSEUR, P., J.F. FERAD and C. RAST, 1984

Luminiscent marine bacteria in ecotoxicity
screening test of complex effluents.

in: Toxicity screening procedures using bacterial
systems, B.J. Dutka, Dickson Liu New York, 1984

VIVIER, A. and H. BARBIER, 1970

Monitoring water pollution, the observation poste
at Boran sur Oise.

Proc. 6th Int. Conf. Poll. Res. Paper 21, 799-807

WELLENS, H., 1983

Vergleich der Empfindlichkeit von Brachydanio
rerio und Leuciscus idus bei der Untersuchung
der Fischtoxizität von chemischen Verbindungen
und Abwässern.

Z. Wasser- und Abwasserforschung 15/16, 49-52

WOLF, E. and G. ZERRAHN-WOLF, 1935

Threshold intensity of illumination and flicker frequency of the eye of the sunfish.

J. Gen. Physiol. 19, 495-592

WUHRMANN, K. und H. WOKER, 1948

Experimentelle Untersuchungen über die Ammoniak- und Blausäurevergiftung.

Rev. Suisse d'Hydrologie 11, 210-214

ZAHNER, R., 1962

Über die Wirkung von Treibstoffen und Ölen auf Regenbogenforellen.

Vom Wasser 29, 142-177

ANHANG

BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR LANDESENTWICKLUNG
UND UMWELTFRAGEN, April 1986

Gewässergütekarte der BR Deutschland, Ausgabe 1984.

Umweltpolitik in Bayern, München, 120-121

DEUTSCHES EINHEITSVERFAHREN, 1982

Zur Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Fische.

DEV. 11. Lieferung, Juni 1982, L 11, L 15, C 1 - C 16

Für die Gewährung von Arbeitsmöglichkeiten zur Durchführung meiner Untersuchungen möchte ich Herrn Prof. Dr. H. Zucker herzlich danken und auf die guten Arbeitsbedingungen im Institut hinweisen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. habil. H. Petry für die Überlassung des Themas, seine freundliche Hilfsbereitschaft und die bereitwillige Unterstützung bei der Durchführung meiner Untersuchungen.

Gleichermaßen gilt mein Dank Herrn Dr. F. Braun, Bayerische Landesanstalt für Wasserwirtschaft, und allen, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

LEBENS LAUF

23.01.1961	geboren in Gerabronn Vater Adolf Hofmann kaufm. Geschäftsführer Mutter Christa Hofmann geb. Walter kaufm. Angestellte
1967 - 1971	Besuch der Grundschule Altenmünster
1971 - 1980	Besuch des Albert-Schweitzer- Gymnasiums, Crailsheim
03.06.1980	Abitur
1980 - 1981	Grundwehrdienst
WS 81/82 - WS 86/87	Studium im Fachbereich Tiermedizin
18.12.1986	Staatsexamen in Tiermedizin
23.01.1987	Approbation als Tierarzt
ab 01.02.1987	Ass.-Tierarzt bei Dr. Karl Sikora, Fichtenau.



